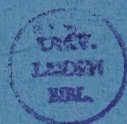


**ZUR VERTRÄGLICHKEIT UND WIRKSAMKEIT
EINIGER ADJUVANTIEN IN IMPFSTOFFEN
GEGEN DIE PARAMYXOVIROSE DER TAUBEN**

RICHARD PFISTER

Disbui. München

1988



Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Josef Kösters

**Zur Verträglichkeit und Wirksamkeit
einiger Adjuvantien in Impfstoffen
gegen die Paramyxovirose der Tauben**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Richard Pfister
aus
Mindelheim

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. J. Kösters

Korreferent: Priv. Doz. Dr. Dr. habil. J. Bauer

Tag der Promotion: 26. Februar 1988

Herstellung: Hieronymus Buchreproduktions GmbH, München



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554801_0081

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
1. Einleitung	1
2. Literatur	3
2.1 Viruscharakterisierung	3
2.1.1 Taxonomie	3
2.1.2 Morphologie	3
2.1.3 Tenazität	4
2.2 Empfänglichkeit von Tauben für PMV-1-Infektionen	4
2.3 Empfänglichkeit anderer Vögel für die neue PMV-1-Variante	5
2.4 Bekämpfung der Paramyxovirose der Tauben	5
2.4.1 Lebendimpfstoffe	5
2.4.2 Impfstoffe aus inaktivierten Erregern	6
2.5 Verträglichkeit der Schutzimpfung	7
2.5.1 Intramuskuläre Injektion	8
2.5.2 Subcutane Injektion	9
2.5.3 Anatomische Besonderheiten am Hals der Taube	10
2.6 Adjuvantien	11
2.6.1 Notwendigkeit und Definition	11
2.6.2 Anforderungen an Adjuvantien	14
2.6.3 Wirkungsmechanismen der Adjuvantien	14
2.6.3.1 Depoteffekt	18
2.6.3.2 Adjuvantien als Transportvehikel	19
2.6.3.3 Lymphozytenzirkulation	19
2.6.3.4 Wirkung auf Makrophagen	20
2.6.3.5 T-Lymphozytenstimulation	20
2.6.3.6 B-Lymphozytenstimulation	21
2.6.3.7 Adjuvanseffekte auf zellulärer und molekularer Ebene	21

	Seite
2.6.4 Einzelne Adjuvantien	23
2.6.4.1 Ölemulsionen FCA / FIA	23
2.6.4.2 Saponin	25
2.6.4.3 CP 20961	26
2.6.4.4 Carbomere	27
2.6.4.5 Poloxamere	28
3. Eigene Untersuchungen	29
3.1 Material und Methoden	29
3.1.1 Tiere	29
3.1.2 Haltung und Fütterung	29
3.1.3 Hauttemperaturmessung	30
3.1.4 Injektionstechnik	31
3.1.5 Ausdehnung der Luftsäcke im Bereich der letzten Halswirbel	31
3.1.6 Versuche mit Impfstoffzubereitungen mit Röntgenkontrastmittelzusatz	32
3.1.6.1 Vorversuche	32
3.1.6.2 Zusammensetzung der Kontrastmittel-Impfstoffe .	33
3.1.6.3 Durchführung der Röntgenaufnahmen	33
3.1.7 Untersuchungen mit verschiedenen Impfstoffformulierungen.	35
3.1.7.1 Die einzelnen Adjuvansformulierungen	35
3.1.7.2 Impfvirus	36
3.1.7.3 Blutentnahme, Serumgewinnung	36
3.1.7.4 Antikörperbestimmung	36
3.1.7.5 Versuch 1: Wirksamkeitsuntersuchung	37
3.1.7.6 Versuch 2: Verträglichkeitsuntersuchung	39
3.1.7.7. Versuch 3: Langzeituntersuchung	39
3.1.7.8 Histologie	39

	Seite
3.2 Ergebnisse	41
3.2.1 Hauttemperaturmessung	41
3.2.2 Luftsackausdehnung im kaudalen Halsbereich	43
3.2.3 Impfstoffe mit Röntgenkontrastmitteln	43
3.2.4 Ergebnisse der Antikörperbestimmung	47
3.2.4.1 Titerwerte aus Versuch 1	47
3.2.4.2 Titerwerte aus Versuch 2	60
3.2.4.3 Titerwerte aus Versuch 3	62
3.2.5 Unerwünschte Wirkungen	64
3.2.5.1 Störungen des Allgemeinbefindens	64
3.2.5.2 Lokale Störungen	64
3.2.6 Histologische Ergebnisse	68
3.2.6.1 Befunde aus Versuch 1	68
3.2.6.2 Befunde aus Versuch 2	70
3.2.7 Lokale Veränderungen am lebenden und am toten Tier . . .	74
 4. Diskussion	 77
 5. Zusammenfassung / Summary / Sumario	 87
 6. Literaturverzeichnis	 93
 7. Abkürzungen	 107

1. Einleitung

Im Verlauf eines Seuchenzuges, der - ausgehend vermutlich vom Nahen Osten - über Italien und die Bundesrepublik Deutschland ganz Europa erfaßte und sich weltweit fortsetzte, sind wir seit 1982 mit einer neuen Taubenkrankheit konfrontiert, die hohe Verluste fordert.

Als Erreger wurde ein aviäres Paramyxovirus vom Serotyp 1 identifiziert. Weil eine kausale Therapie erkrankter Tiere nicht möglich ist, fand die Schutzimpfung als vorbeugende Maßnahme breite Anwendung.

Zunächst wurden vor allem die für Hühner auf dem Markt befindlichen Impfstoffe gegen die Newcastle-Krankheit verwendet, da homologe Impfstoffe nicht verfügbar waren und das, wie sich zeigte, sehr ähnliche ND-Virus als Antigen ausreichende Wirkung entfaltete.

Zwei Tatsachen waren allerdings unbefriedigend. Zum einen der nur einige Monate anhaltende Impfschutz, zum anderen Unverträglichkeitsreaktionen der Tauben auf die Impfung.

Nachdem mit homologem Antigen hergestellte Impfstoffe einen wenigstens 1-jährigen Schutz versprechen und damit eine einmalige Impfung pro Jahr die Taubenbestände ausreichend schützt, sollte sich die vorliegende Arbeit mit Wirksamkeit und vor allem Verträglichkeit von homologen Impfstoffen mit verschiedenen Adjuvantien befassen. Der bereits erfolgreich eingesetzte homologe Impfstoff sollte dazu als Standard dienen.

Die Auffindung von gut verträglichen und wirksamen Adjuvantien kann darüber hinaus die Herstellung von anderen Impfstoffen möglicherweise erleichtern.



2. Literatur

2.1 Viruscharakterisierung

2.1.1 Taxonomie

Das die Panzootie verursachende Virus gehört zur Familie der Paramyxoviridae, Genus Paramyxovirus und wird dort den aviären Paramyxoviren zugeordnet. Zwar faßt lt. ALEXANDER (1987) das "International Committee on Taxonomy of Viruses" alle aviären Paramyxoviren als Newcastle disease virus (NDV) zusammen, nach gängiger virologischer Praxis wird die Gruppe der aviären Paramyxoviren jedoch aufgrund ihres Verhaltens in der Hämagglutination in (bisher) 9 Serotypen gegliedert.

Das Paramyxovirus (PMV) der Taube wird zum 1. Serotyp gerechnet und da nach ALEXANDER (1987) das NDV den 1. Serotyp repräsentiert, kann man das Tauben-PMV als ein NDV bezeichnen. Im Kreuz-Hämagglutinationshemmungstest und mit monoclonalen Antikörpern läßt es sich aber von den bisher bekannten ND-Viren differenzieren und als in sich einheitliche NDV-Variante bestimmen (HEIL 1984; ALEXANDER et al. 1985; ALEXANDER et al. 1987; PEARSON et al. 1987).

2.1.2 Morphologie

Die Morphologie des Tauben-PMV entspricht der aller Paramyxoviren: Es enthält eine 1-strängige RNS, die als zentraler Kern in einem helikalen, linksgedrehten Nukleokapsid liegt (MATSUMOTO 1982). Die Nukleokapsidhelix weist einen inneren Durchmesser von etwa 5 nm, einen äußeren Durchmesser von etwa 16 - 18 nm auf (ALEXANDER 1980) und kann bis zu 1000 nm lang sein (MATSUMOTO 1982).

Sie ist von einer Doppellipid-Hülle umgeben, die in ihrer Größe beträchtlich variiert und dem kompletten Virus pleomorphe Gestalt ver-

leiht. Zwar überwiegen Formen mit annähernd sphärischer Gestalt und einem größten Durchmesser von 190 - 300 nm, aber es kommen auch viele solche mit fädigem Aussehen und einer Länge von bis zu 2000 nm vor (ALEXANDER 1980; MATSUMOTO 1982).

Aus der Hülle ragen zahlreiche Glycoproteide heraus, die als etwa 8 - 12 nm lange Projektionen (= Spikes) zwei morphologisch nicht unterscheidbare Gruppen bilden. Die eine Gruppe trägt das sog. F-Antigen, das für Viruspenetration, Fusion und Hämolyse verantwortlich zu sein scheint, die andere Gruppe trägt Hämagglutinin-Neuraminidase-Antigen, das auch für die Virusadsorption verantwortlich gemacht wird (HEIL 1984).

2.1.3 Tenazität

Die Tenazität des Tauben-Paramyxovirus ist vergleichbar mit der des ND-Virus (PAUKSTAT 1987); letztere wird von MAYR et al. (1984) als relativ hoch angegeben, kommerzielle Virusdesinfektionsmittel sind aber wirksam.

2.2 Empfänglichkeit von Tauben für PMV-1-Infektionen

Tauben besitzen gegenüber den bis 1982 bei uns vorkommenden ND-Virusstämmen eine gewisse natürliche Resistenz. Erkrankungen sind zwar bekannt geworden (Übersicht bei HILBRICH 1972), v.a. im Verlauf des Seuchenzuges bei Hühnern in den 70er Jahren, sie dürfen aber - gemessen an der großen Taubenpopulation - als unbedeutend gewertet werden. In diesen Fällen erreichte die Infektion die Taubenpopulation von außen ohne sich innerhalb der Population wesentlich auszubreiten.

Mit dem Erscheinen der neuen PMV-1-Variante änderte sich dies schlagartig. Sie breitete sich rasant innerhalb der Taubenpopulation aus, ohne daß Ländergrenzen ein Hindernis darstellten. Dabei wurden nicht nur Vertreter der Art *Columba livia* betroffen, sondern auch Wildtauben, z.B. Turteltauben (*Streptopelia turtur*) und Türkentauben (*Streptopelia decaocto*) (KALETA et al. 1984; KNOLL et al. 1985).

2.3 Empfänglichkeit anderer Vögel für die neue PMV-1-Variante

Hühner erkranken unter natürlichen Bedingungen nur gelegentlich nach Infektionen mit dem "Tauben-PMV". Dabei scheint eine relativ hohe Erregerdosis notwendig zu sein; mit erkrankten Tauben zusammen gehaltene Hühner müssen jedenfalls nicht zwangsläufig erkranken (RICHTER u. KÜSTERS 1983). In den berichteten Fällen konnte fast immer mit Taubenkot oder Taubenkadaver kontaminiertes Hühnerfutter als Ursache der Erkrankung ermittelt werden (ALEXANDER 1985; VASICEK u. SCHUSSER 1985; KISSLING u. HENK 1987).

Neben Tauben und Hühnern sind auch andere Vogelarten für das Virus empfänglich. ALEXANDER et al. (1987) identifizierten Isolate von einer Ente, einem Sperling und einem Turmfalken als "Tauben-PMV-1". KALETA et al. (1984) wiesen Virus und/oder spezifische Antikörper bei Sperlingen und Amseln nach. Auch aus einigen Psittaciden, Amazonen sowie aus einem Mäusebussard (*Buteo buteo*) wurde es isoliert (SCHNEEGANSS 1987).

2.4 Bekämpfung der Paramyxovirose der Tauben

Da weder eine kausale Therapie der Paramyxovirose existiert, noch Aussicht darauf besteht, sie mit veterinärbehördlichen Maßnahmen eindämmen oder tilgen zu können, bleibt als Bekämpfungsmöglichkeit nur die regelmäßige Impfung der Tauben bis zum Erlöschen der Seuche in der empfänglichen freilebenden Taubenpopulation.

2.4.1 Lebendimpfstoffe

Zur Bekämpfung der Paramyxovirose der Tauben wurden wegen der Antigenverwandtschaft zunächst die gegen die Newcastle-Krankheit der Hühner benutzten Impfstoffe getestet. Es sind dies Lebendimpfstoffe mit den Impfstämmen La Sota oder Hitchner B₁ und Impfstoffe aus inaktivierten Erregern.

Mit dem Lebendimpfstoffeinsatz bei Tauben wurden aber nur unbefriedigende Ergebnisse erzielt (ESKELUND 1986). Die erreichten Antikörper-Titer waren meist niedrig, der vermittelte Schutz nur schwach (HEIL 1984; KALETA et al. 1985; MÜLLER et al. 1985).

Die Ursache für den Mißerfolg der Lebendimpfstoffe könnte sein, daß sich die beim Huhn wirksamen Stämme in Tauben nur unzureichend vermehren und somit auch keine ausreichende Immunantwort auslösen. Dies trifft zumindest für den Stamm Hitchner B₁ zu (POLTEN u. KALETA 1987). Daraus und aus der Beobachtung, daß der Impfschutz nach Lebendimpfung von der eingesetzten Impfvirusmenge abhängig ist (KALETA et al. 1985) läßt sich schließen, daß die verwendeten Lebendimpfstoffe hier als Impfstoffe aus inaktivierten Viren wirken. Das Adsorbens (Al(OH)₃) war als Adjuvans für diesen Fall aber nicht ausreichend.

Nach Impfung mit Lebendimpfstoff wie auch nach Belastungsinfektion mit "Tauben-PMV" (nicht aber nach Impfung mit inaktivierten Erregern) wurde eine Aktivierung latenter Infektionen mit Chlamydia psittaci beobachtet (SCHMEER et al. 1984; KALETA et al. 1985). Die Tauben blieben zwar klinisch gesund, sie stellen aber möglicherweise eine Infektionsgefahr für ihre Besitzer dar.

Die derzeit verfügbaren Lebendimpfstoffe sind aus all diesen Gründen nicht empfehlenswert.

2.4.2 Impfstoffe aus inaktivierten Erregern

Mit Impfstoffen aus inaktivierten Erregern wurden bessere Ergebnisse erzielt.

Die verschiedenen NDV-Hühnerimpfstoffe (meist mit öligem Adjuvans) vermitteln - zumindest für einige Monate - ausreichenden Schutz.

Dies zeigen zahlreiche Untersuchungen verschiedener Autoren mit unterschiedlichen Ansätzen (Virusstamm, Adjuvans, applizierte Menge usw.) (RICHTER et al. 1983; FRITZSCHE et al. 1984; HEIL 1984; SCHUSSER et al. 1984; SCHUSSER et al. 1985).

Die Entwicklung von Impfstoffen aus inaktivierten Erregern speziell zur Anwendung bei der Taube ist in zwei verschiedene Richtungen gegangen. Sie hat erstens zu einem Impfstoff mit hoher Antigenkonzentration eines "klassischen" NDV-Stammes (La Sota) mit Carbomer als Adjuvans geführt (VINDEVOGEL et al. 1984; JASPERS u. HERMANN-DEKKERS 1986), und sie hat zweitens zur Einführung von Ölemulsionsvakzinen mit "Tauben-PMV" geführt (KNOLL et al. 1985; ESKELUND 1986). Beide Impfstofftypen gewähren nach einmaliger Impfung einen einjährigen Schutz (JASPERS u. HERMANN-DEKKERS 1986; KNOLL 1986; KNOLL et al. 1986).

Neueren Beobachtungen zufolge hält der Impfschutz nach Impfung mit Emulsionsvakzine möglicherweise sogar 1 1/2 - 2 Jahre an (ESKELUND 1987). ESKELUND bezieht sich dabei allerdings auf Feldbeobachtungen, so daß zwischenzeitliche natürliche Infektionen stattgefunden haben könnten.

Entgegen der herrschenden Lehrmeinung, Impfstoffe aus inaktivierten Erregern seien zur Notimpfung kontraindiziert (MAYR et al. 1984; ROLLE et al. 1984), wurden solche Impfungen mehrfach mit Erfolg durchgeführt (RICHTER 1983; ESKELUND 1986; HERMANN-DEKKERS et al. 1987). Dabei verwendeten RICHTER eine w/o-Emulsion mit heterologem, ESKELUND eine w/o-Emulsion mit homologem und HERMANN-DEKKERS et al. eine Carbomer-Vakzine mit heterologem Antigen. Lediglich BAUMBACH u. SCHNEIDER (1985) berichteten über eine vorübergehende Verschlimmerung der Krankheitssymptome nach Impfung mit inaktivierten (heterologen) Erregern.

2.5 Verträglichkeit der Schutzimpfung

WALLIS (1984) schreibt von Todesfällen (unter 1 %) innerhalb einiger Stunden nach der Impfung, die vermehrt zweitgeimpfte Tauben betreffen. Als erfolgversprechende Behandlung gibt er die Verabreichung von Beta-methason an. Über die Impfung macht er keine genaueren Angaben. Injektionsstelle bzw. -technik scheinen aber eine wichtige Rolle für das Auftreten unerwünschter Reaktionen nach Impfung gegen Paramyxovirose zu spielen. Dabei können allgemein injektionsbedingte Schäden und spezielle Schäden auftreten, die auf den verwendeten Impfstoff zurückzuführen sind; eine Unterscheidung ist allerdings nicht immer möglich.

2.5.1 Intramuskuläre Injektion

POHLMAYER u. WISSDORF (1976) berichten von sehr häufig nach intramuskulären (i.m.) Injektionen vorkommenden Hämatomen und Todesfällen bei Tauben. Die Todesfälle führen sie zum kleineren Teil auf Schockwirkung durch die Aufregung der Tauben bei Fang, Transport, Festhalten usw. zurück, zum größeren Teil aber machen sie ungewollte intravasale Injektion dafür verantwortlich. Sie geben für eine relativ sichere i.m. Injektion eine geeignete Injektionsstelle in den Musculus pectoralis profundus an. V. RAUTENFELD u. HICKEL (1982) schließen sich dieser Empfehlung an (sie geben irrtümlich den Musculus pectoralis superficialis als Injektionsstelle an), melden aber Bedenken an hinsichtlich einer Schädigung der Brustmuskulatur durch häufige Injektionen.

Von einzelnen Todesfällen durch Verbluten aus der Injektionsstelle nach i.m. Impfung ist berichtet worden (GÜNTER 1974, SPERHAKE 1975, zit. n. POHLMAYER u. WISSDORF 1976).

Ähnliche Zwischenfälle teilen SCHUSSER et al. (1984) mit. Bei ihnen verbluteten 3 von 5 Tauben.

Nach i.m. Impfung gegen Paramyxovirose mit Emulsionsimpfstoffen wurden am Sektionsmaterial des Instituts z.T. ausgedehnte Nekrosen in der Pektoralismuskulatur beobachtet. FRITZSCHE (1986) berichtet von häufiger auftretender Abszeßbildung nach i.m. Impfung; auch Fälle von Granulombildung mit Beeinträchtigung der Flugleistung wurden bekannt (RICHTER et al. 1983).

HEIL (1984) empfiehlt bei Verwendung von Ölemulsionsvakzinen zur Schutzimpfung von Tauben dennoch die intramuskuläre Injektion für Rassetauben (nicht für Reisetauben); sie schätzt das Risiko der i.m. Injektion für diese Tiere kleiner ein als das der subcutanen Impfung.

VINDEVOGEL et al. (1984) raten zumindest bei Brieftauben strikt von i.m. Applikation ab; sie fanden nach Impfung mit Ölemulsions- und Carbomervakzine Myositis unterschiedlicher Ausprägung (nichteitrig bis granulomatös), die unter Narbenbildung abheilte, fanden jedoch keine Muskel-läsionen nach Injektion von Phosphatpufferlösung.

2.5.2 Subcutane Injektion

Für die subcutane (s.c.) Injektion beim Vogel geben v. RAUTENFELD u. HICKEL (1982) an, sie solle in der kranialen Halshälfte streng dorsomedian ausgeführt werden, damit nicht versehentlich in die Halsluftsäcke oder in die Vena jugularis injiziert wird.

Ähnliche Empfehlungen geben die Hersteller der beiden bisher in der Bundesrepublik Deutschland speziell zum Schutz gegen die Paramyxovirose der Tauben zugelassenen Impfstoffe (Colombovac^o PMV und Para-myxo-vac Vermie^o) in den Gebrauchsinformationen. Die Gebrauchsinformation des letzteren gibt dabei im Text die kaudale Halshälfte, in der Zeichnung aber den Nacken als Injektionsstelle der Wahl an. Die Nackengegend als Ort der s.c. Injektion schreiben auch FRITZSCHE et al. (1984) vor.

HEIL (1984) beobachtet bei mit 0,5 ml Newcavac^o subcutan geimpften Tauben einige Todesfälle und bei etwa 7 % Impfabzesse an der Einstichstelle und befürwortet die s.c. Impfung nur bei Brieftauben. Den Ort der Injektion gibt sie nicht an, vermutlich ist es aber die Nackengegend, denn dies war die am Institut übliche Injektionsstelle.

Über lokale Reaktionen in Form von Hautverdickungen oder auch Abszeßbildung berichten auch andere Autoren (KALETA et al. 1983; SCHUSSER et al. 1984; SCHUSSER et al. 1985).

DEVRIESE u. DEVOS (1982) berichten über kleine Knötchen als einzige unerwünschte Impfreaktion, die sich bei wenigen Tauben nach s.c. Impfung im Nacken palpieren lassen. Ihre Ölemulsionsvakzine enthielt allerdings Salmonella-Antigen.

Die Beobachtungen von KNOLL (1986) widersprechen denen von HEIL (1984) (s.o.). Weder nach einmaliger noch nach zweimaliger Injektion von 0,25 ml (s.c. in den Nacken) einer ganz ähnlich zusammengesetzten Vakzine treten bei den von ihr untersuchten Tauben Unverträglichkeitsreaktionen auf. Sie führt dies auf die sorgfältig, ohne Zeitdruck und immer von derselben Person ausgeführten Impfungen zurück.

Auch andere Autoren berichten davon, daß die s.c. Injektion ohne Nebenwirkungen vertragen wird (VINDEVOGEL u. DUCHATEL 1985; JASPERS u. HERMANN-DEKKERS 1986).

2.5.3 Anatomische Besonderheiten am Hals der Taube

Daß die Kenntnisse der Anatomie der Taube noch lückenhaft sind, beweist die Arbeit von BRÜCKNER (1987). Sie beschreibt einen Gefäßplexus, der sich von der Schädelbasis bis etwa zur Halsmitte ausdehnt und die kraniale Halshälfte manschettenartig umfaßt, wobei dorsal ein ca. 1 mm breiter sagittaler Spalt gefäßfrei bleibt. Dieser vorwiegend venöse Plexus liegt intra- und subcutan und wird von ihr als Plexus venosus intracutaneus collaris bezeichnet. Auf die Existenz dieses Plexus führt sie die nach s.c. Schutzimpfungen aufgetretenen akuten Todesfälle zurück. Subcutane Injektionen in diesem Bereich können demnach durch Verletzung von Plexusgefäßen zum Verbluten der Taube führen.

Einen Zusammenhang zwischen der Existenz des Gefäßplexus mit den lokalen Unverträglichkeitsreaktionen stellt sie nicht her; ein solcher Zusammenhang ist aber gut vorstellbar. Sie schlägt deshalb vor, die s.c. Impfung nicht im Nacken, sondern im kaudalen Halsdrittel vorzunehmen.

Dem stehen aber die oben genannten Bedenken entgegen (v. RAUTENFELD u. HICKEL 1982), die Applikation des Impfstoffs könnte versehentlich in das Luftsacksystem erfolgen, wenn im kaudalen Halsabschnitt geimpft wird.

Angaben zur exakten Ausdehnung der Luftsäcke bei der Taube fehlen. Die Arbeiten zur Anatomie der Luftsäcke beziehen sich vorwiegend auf das Huhn, manchmal mit der Maßgabe, die Anordnung sei bei der Taube sehr ähnlich (AKESTER 1960) oder Abweichungen von den Verhältnissen beim Huhn würden erwähnt (NICKEL et al. 1973).

Trotzdem herrscht offensichtlich Uneinigkeit (oder Nomenklaturunklarheit), ob beispielsweise der Halsluftsack unpaar (STARCK 1982; KING u. McLELLAND 1984) oder paarig angelegt ist (NICKEL et al. 1973; SCHWARZE et al. 1985). AKESTER (1960) gibt für das Huhn einen unpaarigen, für die Taube paarige Halsluftsäcke an.

Selbst unter der Annahme, die Luftsäcke seien bei Huhn und Taube gleich entwickelt, geht aus den oben genannten Quellen nicht hervor, ob bei einer im kaudalen Halsabschnitt ausgeführten s.c. Injektion versehentlich die Luftsäcke getroffen werden können. Die Angaben im Text sind zu ungenau, die Abbildungen zu schematisch.

Nach NICKEL et al. (1973), die die genaueste Abbildung (allerdings ohne Darstellung der Muskulatur) liefern, wäre die unbeabsichtigte Injektion in das Divertikelsystem der Halsluftsäcke oder in die Pars cranialis des Saccus clavicularis denkbar.

2.6 Adjuvantien

2.6.1 Notwendigkeit und Definition

Das Prinzip der Lebendimpfstoffe ist es, mit lebenden, aber für den Impfling nicht oder nur sehr begrenzt pathogenen Erregern im Impfling eine Immunantwort hervorzurufen, die ihn auch gegen die pathogenen Erreger schützt. Dabei ist es zwingend notwendig, daß sich das Impfvirus in ausreichendem Maße im Impfling vermehrt.

Die Vorteile sind eine relativ einfache und damit preiswerte Herstellung und eine u.U. mögliche kollektive Applikation (Trinkwasser, Aerosol).

Man nimmt in Kauf, daß auf diese Weise ein Erreger nicht völlig aus einer Population eliminiert werden kann. Darüber hinaus kann er sich durch unkontrollierte Passagen in Pathogenität oder Erregerspektrum wandeln. Problematisch ist auch, daß Lebendimpfstoffe u.U. Fremdkeime enthalten können (KINTSCHER 1986).

Können Lebendvakzinen nicht eingesetzt werden (kein apathogener Stamm verfügbar, mangelnde Wirksamkeit, gesetzliche Vorschriften usw.), dann werden Impfstoffe aus inaktivierten Erregern verwendet.

Da sich der inaktivierte Erreger nicht vermehrt, ist die dem Impfling zugeführte Antigenmenge von vornherein begrenzt. Aus diesem Grund enthalten solche Vakzinen neben einer höheren Antigenkonzentration in wechselndem Umfang Adjuvantien.

MAYR et al. (1984) definieren diese so:

"Immunologische Adjuvantien einschließlich der Adsorbentien sind ganz allgemein Stoffe, die unter bestimmten Bedingungen Immunreaktionen quantitativ steigern und evtl. auch qualitativ verändern".

Nach dieser Definition gehören zahlreiche Stoffe oder Zubereitungen zu den Adjuvantien. Einige davon sind in Tab. 1 aufgelistet.

Tab. 1: Stoffe mit Adjuvanswirkung

Emulsionen (meist w/o-Emulsionen) mit

- Mineralölen:

- Freunds komplettes Adjuvans (FCA) od.
- Freunds inkomplettes Adjuvans (FIA) (FROST u. LANCE 1978;
- und vielfältige FIA-Modifikationen, MAYR et al. 1984)
- Öle meist mit 14 - 23 Kohlenstoffatomen (PIRETTI et al. 1982)

- Pflanzenölen (Erdnuß-, Sojaöl) (BRUGH et al. 1983; MAYR et al. 1984)

- synthetischen Lipiden (RIBI 1986)

Stoffe bakterieller Herkunft

- Mycobacterien oder deren Bestandteile:

- M. tuberculosis, M. butyricum, M. avium in
w/o-Emulsion = FCA (AIYEDUN 1972; MAGUIRE 1974)
- BCG (ein attenuierter M. bovis-Stamm) (WAKSMAN 1979)
- Wax D (enthält WSA und MDP (WAKSMAN 1979)) (AIYEDUN 1972)
- WSA: wasserlösliches Adjuvans (enthält MDP) (WAKSMAN 1979)
- MDP: Muramyl-dipeptid (ALLISON et al. 1986)
= N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamat und
Derivate davon
(wie MDP synthetisch herstellbar)
- MER: Methanolextraktionsrückstand (WAKSMAN 1979)
- Cordfaktor = TDM (Trehalose-6,6'-dimycolat)
ein Glycolipid (WAKSMAN 1979; HUNTER u. BENNETT 1986)

- Corynebakterium parvum (MAGUIRE 1974; FROST u. LANCE 1978;
(= Propionobacterium acnes) BOMFORD 1980)

- Bordetella pertussis (DRESSER 1968; BOMFORD 1980)

- Listerien-Bestandteile (MAYR et al. 1984)

- LPS: Lipopolysaccharid, ein Endotoxin aus E. coli
o.a. Gram-neg. Bakterien (ALLISON et al. 1986)

- Lipid A: ein wirksamer Bestandteil aus LPS (WAKSMAN 1979)

- NWSM (Nocardia water-soluble material):
aus N. space (WAKSMAN 1979)

Tab. 1 (Fortsetzung): Stoffe mit Adjuvanswirkung

andere Stoffe

- Aluminiumhydroxid (-oxid, -phosphat) (BOMFORD 1980, 1984;
ALLISON et al. 1986)
- Ca-phosphat (MAYR et al. 1984)
- Bentonit (WAKSMAN 1979)
- Tapioka (WAKSMAN 1979)
- DEAE-Dextran = Diethyl-aminoethyl-Dextran (MAYR et al. 1984)
- Dextransulfat (WAKSMAN 1979)
- Saponin (BOMFORD 1980, 1984; ALLISON et al. 1986)
- Zymosan (WAKSMAN 1979)
- Levamisol (MAYR et al. 1984)
- Phytohämagglutinin (WAKSMAN 1979)
- Concanavalin A (KAEBERLE 1986)
- Tiloron (WAKSMAN 1979)
- CP 20961 (NIBLACK et al. 1979; KNUDSEN 1982; ANDERSON et al. 1983;
RUBIN et al. 1983; McKERCHER 1986)
- Polynukleotide: poly A:U, poly I:C (KNIGHT u. LEIPER 1977)
- Dioctadecyldimethylammoniumchlorid (AHKONG et al. 1974)
- Dioctadecyldimethylammoniumbromid (HUNTER u. BENNETT 1986)
- Berylliumsulfat (ALLISON 1979)
- Retinol / Vitamin A (DRESSER 1968; WAKSMAN 1979)
- Liposomen (aus unterschiedlichen Substanzen
hergestellt) (BEATTY et al. 1984; KAEBERLE 1986)
- Polymere
 - Poloxamere (HUNTER u. BENNETT 1986)
 - Carbomere (VINDEVOGEL et al. 1984; DUCHATEL u. VINDEVOGEL 1986)
 - Polymethylmethacrylat (KREUTER et al. 1976; KREUTER u. HAENZEL 1978)
 - Polymer-Pellets (PREIS u. LANGER 1979)

2.6.2 Anforderungen an Adjuvantien

Das Paul-Ehrlich-Institut stellt als die in der Bundesrepublik Deutschland für die Impfstoffzulassung zuständige Instanz an ein Adjuvans, das in Tierimpfstoffen Anwendung finden soll, folgende Anforderungen (MOOS 1987):

- verstärkende Wirkung auf das Antigen
- Unschädlichkeit für den Impfling

und zusätzlich bei Tieren, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen:

- keine Schlachttierkörperschäden
- keine allergisierende Wirkung beim Verzehr.

In die Kategorie der "Lebensmitteltiere" gehören zwar rein rechtlich Brief- und Rassetauben nicht, da sie aber trotzdem nicht nur gelegentlich verzehrt werden, sollten sie als solche behandelt werden.

Für die praktische Anwendung von Adjuvantien werden neben geringer Toxizität und minimalem Entzündungsreiz eine gute Haltbarkeit während der Lagerung und günstige Eigenschaften bei Herstellung und Verwendung der Vakzine erwartet (KNUDSEN 1982). Um eine weite Verbreitung zu erfahren, muß ein Adjuvans nicht zuletzt auch preisgünstig herstellbar sein.

Legt man die oben genannten Maßstäbe an die in Tab. 1 aufgelisteten Adjuvantien an, dann bleiben für den praktischen Einsatz in größerem Umfang nur noch wenige übrig.

2.6.3 Wirkungsmechanismen der Adjuvantien

Während man früher annahm, die Wirkungsweise aller Adjuvantien ließe sich mit einem oder einigen wenigen Mechanismen erklären, hat sich mit wachsendem Verständnis des Immunsystems die Zahl einzelner bekannter Wirkungsmechanismen erhöht, die aber keineswegs immer für alle Adjuvantien Gültigkeit haben. Allen Adjuvantien scheint lediglich eine gewisse

Oberflächenaktivität und eine Aktivierung von Lymphozyten und Makrophagen gemeinsam zu sein (AHKONG et al. 1974; MAYR et al. 1984).

Sollen die Wirkungsmechanismen der Adjuvantien aufgeklärt werden, so müssen nach WAKSMAN (1979) für jede einzelne Adjuvans-Formulierung folgende Fragen beantwortet werden:

- Auf welche Zielzellen wirkt das Adjuvans?
(Makrophagen, T- oder B-Lymphozyten, Vorläufer und/oder Subpopulationen davon, Effektorzellen wie z.B. Plasmazellen oder Killerzellen, Entzündungszellen, Natural-Killer-Zellen usw.)
- Wie verteilt sich das Adjuvans im Verhältnis zur Verteilung der Zielzellen?
- Wie werden die Zielzellen durch das Adjuvans beeinflusst?
(Proliferation, Differenzierung, Membranfunktionen, Sekretion von Mediatoren)
- Was bewirkt das Adjuvans auf zellulärer Ebene?
(Rezeptoren, Membranveränderungen, Second Messenger)

Er bezweifelt, daß diese Fragen für irgendeines der altbekannten Adjuvantien bereits beantwortet seien. Eine von ihm zusammengestellte Auswahl bekannter Adjuvans-Einzelwirkungen ist in Tab. 2 wiedergegeben.

Viele der verwendeten Adjuvantien sind biologische Produkte, die durch ihre komplexe Zusammensetzung aus einer Vielzahl von chemischen Verbindungen eine Zuordnung beobachteter Effekte zu einem bestimmten Stoff nicht zulassen. Durch natürliche Schwankungen im Ausgangsmaterial sowie durch Unterschiede bei Herstellung und Lagerung sind solche Adjuvantien nur schwer in gleichbleibender Zusammensetzung verfügbar. Alle Adjuvantien mit Bestandteilen bakteriellen Ursprungs, mit Aluminiumhydroxid und Saponin sind davon betroffen (KREUTER u. HAENZEL 1978; MAYR et al. 1984).

In letzter Zeit wird versucht, durch den Einsatz weiter aufgespaltener bzw. gereinigter Produkte (z.B. Quil A statt Saponin) oder durch synthetisch dargestellte Bestandteile (z.B. Muramyl-dipeptid) sowie durch Verwendung rein synthetischer Verbindungen einzelne Effekte auch definierten Einzelsubstanzen zuordnen zu können. Zugleich soll mit diesen physikalisch-chemisch reproduzierbaren Materialien eine bessere Vergleichbarkeit einzelner Untersuchungen erreicht werden (KREUTER u. HAENZEL 1978; HUNTER u. BENNETT 1986; KAEBERLE 1986; REID u. BLACKALL 1987).

Tab. 2: Angriffspunkte der Adjuvanswirkung (nach WAKSMAN 1979)

Funktion des Adjuvans	Beispiele
Depot, Disseminierung des Antigens	Mineralöl (Paraffinöl)
Selektive Antigenlokalisierung in thymusabhängigen Gebieten der Lymphknoten	Alkylamine, unpolare kationische Detergentien
Antigentragende Partikel - Depotfunktion - gesteigerte Aufnahme durch Makrophagen - direkte Anregung von B-Zellen	Al(OH) ₃ , Al PO ₄ , Immunkomplexe, Latex, Bentonit, Polymethylmethacrylat
Stimulierung akzessorischer Zellen - gesteigerte Antigenaufnahme - Produktion von Helferfaktoren - Produktion von Faktoren, die die Lymphozytenrezirkulation beeinflussen - Produktion kolonienstimulierender Aktivität - Produktion von Komplement-Komponenten	Triolein, Zymosan, BCG, LPS, Retinol, Polyanionen, Polyelektrolyte Mineralöl
Gesteigerter Lymphozytenstrom in die thymusabhängigen Lymphknotengebiete	B. pertussis, FCA, FIA, Retinol
Unspezifische Stimulierung von T-Zellen	pA:U, MDP
Carrierspezifische Stimulierung von T-Zellen	FCA, einige Viren
Unspezifische Stimulierung von B-Lymphozyten	LPS, NWSM
Anregung von B-Lymphozyten zur IgE-Produktion	Nippostrongylus, andere Helminthen
Gesteigerte Ausreifung von T- und B-Vorläuferzellen	LPS, pA:U
Direkte Stimulierung von Natural Killer-Zellen	Arenaviren, Statolon, Interferon, Tiloron
Direkte Stimulierung von Killer-Zellen	FCA
Zelluntergang und Freisetzung von Nukleotiden	Phytohämagglutinin, Concanavalin A, Silikat
Ausschaltung von Suppressorzellen	Röntgenstrahlen, Cyclophosphamid, einige Viren

2.6.3.1 Depoteffekt

Dem Körper zugeführtes Antigen wird sehr schnell durch Phagozytose eliminiert. Dies kann als Teil der unspezifischen Abwehr und vielleicht auch als "Abfallbeseitigung" verstanden werden.

Beim Säuger besorgen dies Granulozyten und Makrophagen (WAKSMAN 1979), beim Vogel größtenteils die Thrombozyten (CHANG u. HAMILTON 1979). Da angenommen wird, daß auch beim Vogel nur ein von Makrophagen (oder nur einer bestimmten Makrophagenpopulation) aufgenommenes Antigen einen wirksamen Antigenreiz auf das Immunsystem ausübt (TIZARD 1982), hat damit der größte Teil des löslich zugeführten Antigens nicht die Gelegenheit, eine Immunantwort auszulösen.

Wird das Antigen dagegen in gebundener Form zugeführt (adsorbiert, konjugiert oder inkorporiert), wird es nur allmählich freigesetzt und bewirkt über einen längeren Zeitraum einen Antigenreiz.

Durch die Bindung an einen Trägerstoff können kleine Antigene, die an sich keine oder nur eine unzureichende Immunantwort auslösen, eine stärkere Antwort hervorrufen. Solche Trägerstoffe, wie z.B. Bentonit, Latex- oder Polyacrylteilchen, werden von manchen Autoren als Carrier bezeichnet (KAEBERLE 1986), als Stoffe also, die ein Hapten durch Bindung zu einem Vollantigen machen. Die Grenzen zwischen immunologisch inerten Carriern und Adjuvantien seien allerdings fließend (KAEBERLE 1986).

Diese Unterscheidung trägt wohl mehr zur Verwirrung als zum Verständnis bei, denn diesen "inerten Carriern" werden von anderen Autoren (WAKSMAN 1979) auch echte Adjuvanswirkungen zugeschrieben (gesteigerte AG-Aufnahme durch Makrophagen und Retikulumzellen, damit T-Zellen-Stimulation und Steigerung der thymusabhängigen Immunantwort u.a.).

2.6.3.2 Adjuvantien als Transportvehikel

Manche Adjuvantien bewirken einen Antigentransport vom Ort der Applikation weg. So wurden Ölreste von w/o-Emulsion in Leber, Lunge und weit entfernten Lymphknoten gefunden (JARC u. KÜLBL 1984; FREUND 1956, zit. n. WAKSMAN 1979).

Damit wird das Antigen einer größeren Zahl von immunkompetenten Zellen zugänglich und dementsprechend die Immunantwort stärker. Daß demgegenüber die lokale Reaktion in den Hintergrund tritt, zeigt die Beobachtung, daß die Entfernung des Öldepots am Applikationsort innerhalb einer halben Stunde die Immunantwort unbeeinflusst läßt (WAKSMAN 1979).

2.6.3.3 Lymphozytenzirkulation

Eine Adjuvanswirkung ist, die Lymphozytenzirkulation im Körper zu beeinflussen. Dies kann auf mehreren Stufen erfolgen (WAKSMAN 1979; KAEBERLE 1986; McKERCHER 1986):

1. Verstärktes Verlassen des Ursprungsgewebes (z.B. Knochenmark) von eben erst ausgereiften Lymphozyten.
2. Anlocken von Lymphozyten an den Applikationsort von Adjuvans und Antigen.
3. Beeinflussung der Rezirkulation der Lymphozyten in der Weise, daß sie im regionären Lymphknoten akkumulieren (sog. lymphocyte trapping) und daß damit mehr Zellen zur "Bearbeitung" angelieferten Antigens zur Verfügung stehen.
4. Beeinflussung des Ortes, an dem sich die Lymphozyten nach Verlassen des regionären Lymphknotens ansiedeln (= Beeinflussung des sog. lymphocyte homing).

2.6.3.4 Wirkung auf Makrophagen

Der Einfluß eines Adjuvans auf Makrophagen hat zentrale Bedeutung für die gesamte Adjuvanswirkung. Makrophagen (und ähnliche Zellen der Makrophagenreihe, wie z.B. die Kupffer'sche Sternzelle) spielen eine wichtige Rolle für die

- Antigenaufnahme,
- Antigenaufbereitung (antigen processing),
- Antigenpräsentierung (an Helfer-T-Zellen und vermutlich auch Helfer-B-Zellen; dabei Präsentation selektierter Antigenteile)
- Freisetzung spezifischer und unspezifischer Helfer-Faktoren, die T- und B-Zellantworten verstärken.

(WAKSMAN 1979; TSE u. ROSENTHAL 1986)

Durch zahlenmäßige Vermehrung oder durch Aktivierung der Makrophagen können diese Funktionen durch Adjuvantien intensiviert werden.

Bei der Aktivierung kann darüber hinaus die Makrophagentätigkeit auch qualitativ verändert werden. So vermuten BEATTY et al. (1984), daß Liposomen die Antigenaufbereitung unbeeinflusst lassen, aber die Antigenaufnahme fördern.

2.6.3.5 T-Lymphozytenstimulation

Da die T-Lymphozyten stark von aktivierten Makrophagen oder deren Produkten (Mediatoren, Faktoren) beeinflußt werden (TSE u. ROSENTHAL 1986), sind direkte Effekte von Adjuvantien auf T-Lymphozyten schwierig nachweisbar (KAEBERLE 1986), die beobachteten Effekte sind also nicht immer direkte Adjuvanswirkungen (BEATTY et al. 1984).

Adjuvantien können die Vermehrung von T-Lymphozyten-Vorläuferzellen, die Reifung solcher Zellen und deren Differenzierung zu ausgereiften Stadien auslösen bzw. beschleunigen. Sie können dabei in allen Stadien ansetzen oder nur an einzelnen Schritten oder T-Zell-Populationen wirken.

Ein polyclonaler T-Zell-Aktivator ist das Polynukleotid poly(A:U). Es wirkt auf Vorläuferzellen und auf ausgereifte T-Zellen. Unter seinem Einfluß entstehen auch T-Suppressorzellen, aber anscheinend verzögert, denn wenn das Adjuvans zeitlich vor dem Antigen verabreicht wird, kann eine Immunantwort supprimiert werden (KAEBERLE 1986).

Liposomen regen dagegen (indirekt über Makrophagen) nur Helfer-T-Zellen an (BEATTY et al. 1984).

2.6.3.6 B-Lymphozytenstimulation

Eine direkte Adjuvanswirkung auf B-Lymphozyten scheint im Gegensatz zur indirekten Wirkung über die Vermittlung von Makrophagen und/oder T-Lymphozyten eher die Ausnahme zu sein (KAEBERLE 1986).

Korpuskuläre Adjuvantien wie Aluminiumhydroxid, Bentonit u.a. vermögen aber B-Lymphozyten direkt anzuregen (WAKSMAN 1979).

Einige Adjuvantien sind B-Zell-Mitogene und beziehen daraus einen Teil ihrer Adjuvanswirkung. LPS ist eines dieser Adjuvantien (ALLISON 1979), wobei interessant ist, daß nach Applikation von LPS + Antigen als Immunantwort nur IgM-Antikörper produziert werden, während normalerweise nach einer anfänglichen IgM-Antikörperproduktion später IgG-Antikörper gebildet werden. Die Ausdifferenzierung der B-Lymphozyten (bzw. Plasmazellen) zu IgG-produzierenden Zellen unterbleibt (MAGUIRE 1974; KAEBERLE 1986).

2.6.3.7 Adjuvanseffekte auf zellulärer und molekularer Ebene

Wie die Adjuvantien an der Zellwand gebunden werden, was sie intrazellulär verändern oder bewirken und wie die betroffenen Zellen darauf reagieren, ist bisher nur bruchstückhaft bekannt.

Von FCA weiß man, daß das Tuberculoprotein mit spezifischen Immunglobulinrezeptoren der Zielzelle reagiert. Für MDP wird ein spezifischer Rezeptor vermutet. Von anderen Adjuvantien wie organischen Aminen, kationischen Detergentien oder Liposomen nimmt man an, daß sie in erster Li-

nie aufgrund ihrer physikalischen Beschaffenheit mit der Zellwand binden (WAKSMAN 1979).

Wie das gebundene Adjuvans intrazellulär seine mehr oder weniger spezifischen Wirkungen übermittelt und die dazu zur richtigen Zeit im Zellzyklus nötigen Signale auslöst, ist noch unklar.

Die Resultate sind jedenfalls vielfältig: Kontraktion der Mikrofilamente und Bewegung der Zellwand (Zellbewegung, Phagozytose usw.), Zellwandvergrößerung und Bildung neuer oder Vermehrung vorhandener Zellwandrezeptoren, Bildung und Freisetzung von Helferfaktoren (Monokine, Lymphokine, kolonienstimulierende Faktoren usw.) und Regulatorfaktoren (Prostaglandine, Thromboxane, Prostacyclin) und bei B-Lymphozyten Bildung von Antikörpern der verschiedenen Klassen (WAKSMAN 1979).

Vielleicht bedingen die beobachteten Vorgänge nicht nur den Adjuvans-effekt eines Stoffes oder einer Präparation, sondern sind Grundlage anderer Wirkungen auf das Immunsystem. So sind z.B. LPS, Polynukleotide, Tiloron als Adjuvantien und als Paramunitätsinducer bekannt (MAYR et al. 1984).

WOLF (1986) gibt einige Adjuvantien an (Zymosan, BCG, Bordetella, Corynebact. parvum, MDP, LPS, Lipid A, Concanavalin A, Phytohämagglutinin, Polynukleotide), die bei Mäusen kolonienstimulierende Aktivität (CSA) im Serum induzieren, und er findet eine Korrelation zwischen paramunisierender Eigenschaft und Serum CSA.

Schließlich sind auch eine ganze Reihe von Stoffen bekannt, die Adjuvanswirkung ausüben und Interferoninducer sind. Hierzu zählen beispielsweise Polynukleotide, Carbomere, Tiloron und CP 20961 (HOFFMAN et al. 1973; DE CLERCQ u. LUCZAK 1976; NIBLACK et al. 1979).

Die Liste der Adjuvantien, die gleichzeitig als Paramunitätsinducer, CSA-Inducer oder Interferoninducer wirken, wird zukünftig sicher noch länger werden.

Die genauen Beziehungen zwischen Adjuvanswirkung und den einzelnen Inducerfunktionen sind noch weitgehend unbekannt. Für Interferoninducer

scheint aber zuzutreffen, daß das Interferon zur Adjuvanswirkung beiträgt (WAKSMAN 1979), aber nicht allein für die Adjuvanswirkung verantwortlich ist (NIBLACK et al. 1979).

2.6.4 Einzelne Adjuvantien

2.6.4.1 Ölemulsionen FCA / FIA

Ölemulsionen wurden und werden vielfach als Adjuvantien eingesetzt. Die Prototypen stellen Freundts komplettes Adjuvans (FCA) und Freundts inkomplettes Adjuvans (FIA) dar. Diese bestehen aus einer stabilen Wasser-in-Öl-Emulsion (w/o-Emulsion) mit wässriger AG-Suspension als innerer und Mineralöl + Emulgator als äußerer Phase. In FCA sind darüber hinaus abgetötete Mycobakterien (v.a. *M. tuberculosis* oder *M. butyricum*) enthalten, die vor dem Emulgieren der Ölphase zugemischt werden (AIYEDUN 1972; BOMFORD 1980).

FCA wird als das stärkste bekannte experimentelle Adjuvans bezeichnet (CHEDID et al. 1986). Zum praktischen Einsatz eignet es sich nicht, da es toxisch und pyrogen wirkt, zu sehr starken lokalen Reaktionen mit regelmäßiger Granulombildung führt und gegen Tuberkulin sensibilisiert (ALLISON et al. 1986).

FIA wird heute in vielfältigen Variationen (Emulgatoren, Öle, W/Öl-Mischungsverhältnisse) eingesetzt. McKERCHER (1986) macht 3 Phänomene für ihre Wirksamkeit verantwortlich:

1. Depotbildung
2. Funktion als Transportvehikel
3. Bildung und Akkumulation von mononukleären Zellen
wird gesteigert.

WAKSMAN (1979) macht ähnliche Angaben zur Wirkungsweise (siehe Tab. 2). Obwohl sie seit Jahrzehnten erfolgreich eingesetzt werden, waren sich Wissenschaftler aus der ganzen Welt 1982 einig darüber, daß der Wirkungsmechanismus der so hergestellten Vakzinen nicht exakt aufgeklärt ist und weiterer Untersuchungen bedarf (Anon. 1982). Während einige

Autoren (STONE et al. 1978; ZANELLA u. MARCHI 1982; MAYR et al. 1984) eine stabile w/o-Emulsion als Voraussetzung für eine Adjuvanswirkung betrachten, berichten BRUGH et al. (1983) von guter Wirksamkeit einer durch heftiges, manuelles Schütteln hergestellten Mineralölemulsion, deren Stabilität weniger als 1 Woche betrug.

Die Anwendung von mineralöhlhaltigen Emulsionen ist aber problematisch, da sie zu gelegentlicher Granulombildung führen und sehr lange in der Umgebung der Injektionsstelle verbleiben.

Mineralöle und einige Emulgatoren stehen daneben im Verdacht, potentiell onkogen zu wirken (ALLISON et al. 1986). Ein Abbau von aliphatischen Kohlenwasserstoffen im tierischen Organismus, v.a. der Leber wird zwar beschrieben (STETTEN 1943; BERNHARD et al. 1952), doch scheint dieser Abbau langsam abzulaufen. So fanden FRANCHINI u. PIRETTI (1979) 70 Tage, PIRETTI et al. (1982) noch 282 Tage nach einmaliger Impfung mit Ölemulsionsvakzine beachtliche Mengen der applizierten Kohlenwasserstoffe.

JARC u. KÜLBL (1984) fanden 56 Wochen p.inj. noch Ölrückstände an der Impfstelle und teilweise in der Leber. Sie betrachten den Einsatz von Paraffinöl (= Mineralöl) in Geflügelimpfstoffen aber als unproblematisch. PIRETTI et al. (1982) haben Bedenken wegen der im Schlachtkörper verbleibenden Rückstände.

Beim Geflügel werden Mineralölemulsionsvakzinen vielfach eingesetzt. Sie dienen der Prophylaxe von Viruskrankheiten wie z.B.

- des Egg-drop-Syndroms 1976 (EDS 76)
(COOK, 1982; KHALAF et al. 1982)
- der Infektiösen Bursitis (Gumboro) der Hühner
(BAXENDALE u. LÜTTICKEN 1982; GUITTET et al. 1982)
- der Newcastle-Krankheit bei Hühnern
(STONE et al. 1978; EIDSON 1982; MEULEMANS et al. 1982;
JARC u. KÜLBL 1984)
und bei Puten
(AITKEN u. SURVASHE 1974; BOX et al. 1974)
- der Paramyxovirose der Tauben
(RICHTER et al. 1983; HEIL 1984; KNOLL et al. 1985;
ESKELUND 1986; KNOLL 1986; POLTEN 1986).

Auch die Wirkung in Impfstoffen mit bakteriellen Antigenen, z.B. Salmonella-Antigen (BECHIR et al. 1979; HUPE 1980; DEVRIESE u. DEVOS 1982; KIRSCH 1986) oder Escherichia coli-Antigen (PANIGRAHY et al. 1984) wurde untersucht.

2.6.4.2 Saponin

Saponine kommen als Giftstoffe in einer ganzen Reihe von Pflanzenarten vor, schäumen stark in wässriger Lösung und wirken hämolytisch, expektorierend und emulgierend (LIEBENOW u. LIEBENOW 1981; PHARMAZEUTISCHE STOFFLISTE 1984). Im DEUTSCHEN ARZNEIBUCH (1986) werden als Saponin Pflanzenglykoside von Gypsophila-Arten oder von Quillaja saponaria MOLINA genannt. Wegen der unterschiedlichen Herkunft muß das eingesetzte Saponin auf seine Adjuvans-Aktivität geprüft werden (MAYR et al. 1984). In letzter Zeit werden einzelne, aus dem Stoffgemisch "Saponin" gewonnene Bestandteile (Quil A) als Adjuvantien erprobt (REID u. BLACKALL 1987).

Als Adjuvans scheint es mehr die humorale und weniger die zelluläre Immunitätsbildung anzuregen. Es zeigt dabei eine deutliche Abhängigkeit von immunogenen und physikalisch-chemischen Eigenschaften (Größe, Molekulargewicht, Oberflächencharakteristika) des Antigens, wobei es zusammen mit großen, korpuskulären Antigenen und guter Immunogenität effektiver wirkt als mit anderen (BOMFORD 1980, 1984).

In größerem Umfang fand und findet es v.a. in Impfstoffen aus inaktivierten Erregern gegen die Maul- und Klauenseuche Verwendung (MAYR et al. 1984).

2.6.4.4 Carbomere

Als Carbomere oder Carboxypolymethylene bezeichnet man eine synthetisch hergestellte Stoffgruppe aus quervernetztem Polymer der Acrylsäure mit Allylsaccharose (MARTINDALE 1982; DEUTSCHES ARZNEIBUCH 1986).

Carbopol® enthält je nach dem angefügten Zusatz (z.B. Carbopol® 934, Carbopol® 940 P) verschiedene Vertreter dieser Stoffgruppe bzw. Mischungen, die sich auch in Reinheit usw. unterscheiden (THOMA et al. 1983).

Carbomere werden in der Pharmazie in Externa und Interna als Hilfsstoffe verwendet:

- in Tabletten dienen sie als Bindemittel oder als Zusatz zur Retardierung von Wirkstoffen (MARTINDALE 1982)
- in der Dermatologie und in der kosmetischen Industrie haben sie zur Herstellung farbloser Hydrogele weite Verbreitung gefunden (THOMA et al. 1983).

Daraus darf auf geringe Toxizität und geringe sensibilisierende (allergisierende) Potenz geschlossen werden.

Eine Vakzine gegen die Paramyxovirose der Tauben mit Carbomer als Adjuvans beschreiben VINDEVOGEL et al. (1984) und andere Autoren (VINDEVOGEL u. DUCHATEL 1985; DUCHATEL u. VINDEVOGEL 1986; JASPERS u. HERMANN-DEKKERS 1986). Sie ist in der Bundesrepublik Deutschland als Colombovac® PMV im Handel.

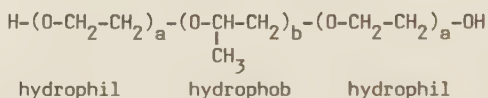
KREUTER et al. (1976) führten Versuche mit anderen Polyacrylaten durch und fanden, daß Polymethylmethacrylat mit Influenza-Antigen in Mäusen höhere Antikörpertiter hervorruft als Aluminiumhydroxid. Für die Wirksamkeit ist eine Teilchengröße des Adjuvans von 0,1 - 0,2 µm ideal; Teilchen größer als 0,5 µm sind nicht oder nur schwach wirksam.

2.6.4.5 Poloxamere

Poloxamere sind nichtionogene, oberflächenaktive Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Polyoxyethylen-Block-Kopolymere (PHARMAZEUTISCHE STOFFLISTE 1984; HUNTER u. BENNETT 1986), mit der chemischen Bezeichnung

α -Hydro- ω -hydroxypoly(oxyethylen)poly(oxypropylen)poly(oxyethylen)-block-Kopolymer

und der Formel



Zur näheren Charakterisierung trägt jedes Poloxamer eine Zahl, z.B. P.188, P.331, P.407 usw.. Die ersten beiden Ziffern geben, mit 100 multipliziert, ungefähr das durchschnittliche Molekulargewicht des Polyoxypropylen-Anteils an; die dritte Ziffer, multipliziert mit 10, gibt den Gewichtsprozentgehalt des Polyoxyethylenanteils an.

Je nach der Größe von a bzw. b und damit der Polyoxyethylen- bzw. Polyoxypropylenanteile variieren die einzelnen Poloxamere in der Konsistenz von flüssig über pastös bis wachsartig-fest. Die Wasserlöslichkeit steigt mit wachsendem Polyoxyethylen-Anteil und fällt mit zunehmendem Polyoxypropylen-Anteil.

Poloxamere werden in der Medizin als Emulgatoren für fetthaltige Infusionslösungen, als Laxantien und als Hilfsstoffe verwendet (MARTINDALE 1982; PHARMAZEUTISCHE STOFFLISTE 1984). Die Adjuvanswirkung einiger Poloxamere beschreiben HUNTER u. BENNETT (1984, 1986).

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Tiere

Alle Untersuchungen wurden ausschließlich mit Rasse- und Reisetauben (beiderlei Geschlechts) sowie Kreuzungen daraus (*Columba livia* GMELIN 1789 var. dom.) durchgeführt.

Für die Untersuchungen der Luftsackausdehnung, für die Hauttemperaturmessungen, sowie für die Untersuchungen mit Röntgenkontrastmitteln wurden adulte, klinisch gesunde Tauben aus dem Institutsbestand verwendet.

Die Tauben für Versuch 1, 2 und 3 (verschiedene Impfstoffformulierungen) waren zwischen 7 Wochen und 9 Monaten alt. Es waren zum Teil Tiere aus der Institutsnachzucht, zum Teil zugekaufte Tiere. Sie stammten alle von gegen PMV geimpften Elterntieren ab, waren aber selbst ungeimpft. Diese Tauben wurden vor Versuchsbeginn untersucht und waren klinisch gesund und serologisch frei von Salmonellen-Antikörpern sowie von AK gegen PMV-Taube und NDV-Montana. Sie waren außerdem frei von Trichomonaden, Endo- und Ektoparasiten oder wurden gegebenenfalls behandelt. Dabei lag zwischen Behandlungsende und Versuchsbeginn eine Zeitspanne von mindestens 14 Tagen.

3.1.2 Haltung und Fütterung

Die Tiere für die Untersuchungen mit Röntgenkontrastmitteln sowie für die Hauttemperaturmessungen wurden in einer Taubenvoliere ohne Freiflug gehalten. Sie erhielten 1 x tägl. handelsübliches Taubenalleinfutter (Fa. Natural Deutschland, Alsdorf) und Wasser und Grit ad libitum. Als Einstreu dienten Säge- und Hobelspäne.

Die Tauben wurden mit nummerierten Fußringen aus Leukoplast^o gekennzeichnet; die Numerierung erfolgte unabhängig von der der folgenden Tauben.

Die Tauben Nr. 1 - 186 (Versuch 1 und 2) wurden in Drahtkäfigen von ca. 61 x 41 x 47 cm (L x B x H), jeweils 2 Tiere pro Käfig (ausnahmsweise allein) gehalten, erhielten handelsübliches Taubenalleinfutter (Fa. Natural Deutschland, Alsdorf) und Leitungswasser ad libitum, beides aus Automaten. Zusätzlich erhielten sie Taubengrit zum Futter. Der Stallraum war heizbar, so daß die Stalltemperatur nicht unter 15° C sank.

Die Versuche wurden in mehreren Durchgängen ausgeführt, wobei sich jeweils einige ungeimpfte Tauben zur Kontrolle im Stall befanden.

Die Tauben Nr. 187 - 216 (Versuch 3) wurden nach Aussehen und Verhalten in männliche und weibliche Tiere getrennt und jeweils in einer Voliere ohne Freiflug gehalten. Es wurde darauf geachtet, daß sich in jeder Gruppe 5 ungeimpfte Tiere zur Kontrolle befanden.

Die Tiere erhielten Taubenalleinfutter und Wasser ad libitum, zusätzlich Taubengrit und ca. alle 4 Wochen Euravit^o im Trinkwasser. Als Volieren-einstreu wurde mineralisches Granulat (Palosan^o, Fa. Ytong, München) verwendet.

Die Tauben Nr. 1 - 216 wurden mit nummerierten Kunststoff-Fußringen gekennzeichnet.

3.1.3 Hauttemperaturmessung

Die Methode wurde an 5 unbehandelten Tauben geprüft. Als Meßgerät diente ein elektronisches Thermometer der Firma Micronics GmbH München, Modell MT 80 (Meßbereich: 0,0° C - 44,6° C) mit Hautfühler.

Eine Hilfsperson fixierte die Taube, die Sonde wurde in der Nackengegend durch das Federkleid hindurch unter Sichtkontrolle an eine zuvor markierte Hautstelle gebracht und unter mäßigem Druck so lange fixiert, bis die Temperatur konstant blieb. Anschließend wurde in analoger Weise zum Vergleich die Hauttemperatur über dem Musculus pectoralis superficialis bestimmt. Waren auf diese Weise alle 5 Tauben gemessen, wurde ein neuer Versuchsdurchgang begonnen.

Wegen der unbefriedigenden Ergebnisse (siehe dort) dieser Methodiküberprüfung wurden die Messungen nicht fortgeführt.

3.1.4 Injektionstechnik

Die Injektion aller Impfstoff-Röntgenkontrastmittelzubereitungen sowie der Testchargen, mit denen die Tauben in Versuch 1 (Nr. 1 - 156) geimpft wurden, wurde subcutan im Nacken ausgeführt, wie dies v. RAUTENFELD u. HICKEL (1982) empfahlen und wie dies auch am Institut bei Tauben üblich war.

Dabei fixierte ein Helfer die Taube an Körper und Kopf, dann wurde mit kaudaler Stichrichtung dorsomedian knapp kaudal des Kopfes in eine aufgezogene Hautfalte injiziert.

Als Konsequenz aus der Arbeit von BRÜCKNER (1987), die vorschlug, die subcutane Injektion bei der Taube weiter kaudal auszuführen, wurde die Injektionstechnik geändert. Nachdem abgeklärt war (s. Ergebnisse), daß eine subcutane Injektion im kaudalen Halsbereich möglich ist, ohne in das Luftsacksystem zu injizieren, wurde die Injektion bei den Tauben in Versuch 2 und Versuch 3 (ab Nr. 157) folgendermaßen durchgeführt:

An der von einem Helfer fixierten Taube wurde dorsomedial über den letzten Halswirbeln (also etwa über der Apertura thoracis) eine Hautfalte hochgezogen und in diese Falte mit kranialer Stichrichtung flach eingestochen.

3.1.5 Ausdehnung der Luftsäcke im Bereich der letzten Halswirbel

Da hierüber bei der Taube wenig bekannt zu sein scheint, wurde ein kleiner Versuch unternommen: Eine Taube wurde euthanasiert (Injektion von ca. 2 ml T 61°), die Trachea im Halsbereich freipräpariert, durchtrennt und ein Kunststoffschlauch in die Trachea eingebunden. Der Schlauch wurde an eine handelsübliche Fahrradpumpe mit Fußbedienung angeschlossen, Lunge und Luftsäcke durch mäßiges Pumpen (per Hand) unter Druck gesetzt; zur Druckerhaltung wurde der Schlauch abgeknickt. Nach vorsichtigem Abpräparieren der Haut dorsal über den letzten Halswirbeln wurden Luftsackteile sichtbar. Stärkeres Pumpen und damit sicherlich höherer Druck

als unter physiologischen Bedingungen erreicht wird, ließ die Luftsackausbuchtungen noch deutlicher hervortreten.

3.1.6 Versuche mit Impfstoffzubereitungen mit Röntgenkontrastmittelzusatz

3.1.6.1 Vorversuche

Die Verweildauer eines Impfstoffs bzw. seiner Komponenten am Injektionsort sollte untersucht werden. Einerseits darf zwischen Verweildauer und Dauer des Antigenreizes (und somit der Wirksamkeit des Impfstoffs) eine Beziehung angenommen werden, andererseits sagt die Verweildauer auch etwas über die Dauer der lokalen Reizwirkung durch den Impfstoff und somit über seine Verträglichkeit aus.

Durch Einmischen von Röntgenkontrastmittel sollte geprüft werden, ob die Verweildauer nach Injektion der so modifizierten Impfstoffe bestimmt werden kann. Bariumsulfat schied wegen starker Gewebereizung von vornherein aus. Es blieben die Kontrastmittel mit lipophilen oder hydrophilen Jodverbindungen. KRAUTWALD (1987) bescheinigt den von ihr untersuchten, wasserlöslichen Jodverbindungen (u.a. Solustrast^o) gute Gewebeverträglichkeit.

In den Vorversuchen hatte sich gezeigt, daß subcutan im Nacken injizierte ölige Jod-Kontrastmittel (Duroliopaque^o 0,5 ml bzw. 0,25 ml /Lipidol^o 0,5 ml bzw. 0,25 ml) mindestens 33 Tage unverändert am Injektionsort verbleiben und somit für die Versuche nicht brauchbar waren.

Die Vorversuche hatten auch gezeigt, daß die wäßrige Lösung des (wasserlöslichen) Jod-Kontrastmittels Jopamidol (Solustrast^o) in der verwendeten Menge und Konzentration (0,5 ml bzw. 0,25 ml einer Lösung von 408,2 mg Jopamidol/ml physiologischer Kochsalzlösung) nach s.c. Injektion im Nacken im Röntgenbild deutliche Kontraste ergibt und nach ca. 5 Std. nicht mehr nachweisbar ist.

3.1.6.2 Zusammensetzung der Kontrastmittel-Impfstoffe

Für die Untersuchungen mit Impfstoffen wurde deshalb Jopamidol verwendet. Dabei stellte sich heraus, daß das Einmischen der gewünschten Menge Jopamidol in die w/o-Emulsion mit Marcol 52 (IP 6989) und mit Isopropylpalmitat (IP 6996) bei einem Dosisvolumen von 0,25 ml nicht möglich ist. Bei diesen beiden Präparationen wurde deshalb die Jopamidolkonzentration halbiert. Dementsprechend betrug die verabreichte Dosis bei diesen beiden Präparationen 0,5 ml, bei den 6 anderen Präparationen 0,25 ml.

Über die Zusammensetzung der 8 kontrastmittelhaltigen Impfstoffformulierungen gibt Tab. 3 Auskunft.

Die Formulierungen wiesen bis auf IP 6996 einen weißen Bodensatz (höchstwahrscheinlich Jopamidol) auf, der sich durch vorsichtiges Erwärmen im Wasserbad bis max. 40° C und Schütteln

- ganz bei IP 6989
- teilweise bei IP 6990 und IP 6993
- nicht bei IP 6991, IP 6992, IP 6994 und IP 6995

auflösen ließ.

3.1.6.3 Durchführung der Röntgenaufnahmen

Im ersten Versuchsdurchgang wurden 8 Tauben untersucht. Diese erhielten nacheinander die s.c. Injektion in den Nacken und wurden nach 5 Minuten, 2, 4, 6, 8, 22, 30, 46, 70 und 98 Stunden in jeweils gleicher Reihenfolge geröntgt.

Im zweiten Versuchsdurchgang wurden 24 Tauben untersucht, und zwar wurden jeweils 6 Tauben wie oben beschrieben injiziert und sofort anschließend geröntgt. Danach wurde mit je 6 weiteren Tauben ebenso verfahren. Die Röntgenaufnahmen an den folgenden Tagen wurden etwa zur gleichen Tageszeit wie am Tag der Injektion gemacht.

Alle Aufnahmen wurden mit dem Röntgengerät Siemens Nanodor 2 auf Ostray M 3 Röntgenfilm von Agfa Gevaert im Format 9 x 12 cm oder 13 x 18 cm bei 55 kV 1/64 Sekunde belichtet und im Tank entwickelt.

Tab. 3: Zusammensetzung der Impfstoffformulierungen mit Röntgenkontrastmittel

Zusammensetzung	IP 6989	IP 6990	IP 6991	IP 6992	IP 6993	IP 6994	IP 6995	IP 6996
P ₃ G	0,807 g	0,807 g	0,807 g	0,807 g	0,807 g	0,807 g	0,807 g	0,807 g
Marcol 52	11,046 g	400 mg	400 mg					
Emulgatoren	1,143 g	200 mg	250 mg					
Poloxamer A		240 mg	240 mg					
CP 20961				10 mg				
Intralipid 10 %					7,0 g			
Saponin						4 mg		
Carbomer							4,416 g	
Isopropyl- palmitat								6,8 g
DL Tokopherol- acetat								2,0 g
Glycin	96,6 mg							96,6 mg
Thiomersal	1,88 mg							1,88 mg
Jopamidol	4,082 g	4,082 g	4,082 g	4,082 g	4,082 g	4,082 g	4,082 g	4,082 g
Aqua pro inj.	ad 20 ml	ad 10 ml	ad 10 ml		ad 10 ml		ad 10 ml	ad 20 ml
NaCl 0,85 %				ad 10 ml		ad 10 ml		
Dosen	40	40	40	40	40	40	40	40

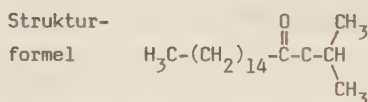
3.1.7 Untersuchungen mit verschiedenen Impfstoffformulierungen

3.1.7.1 Die einzelnen Adjuvansformulierungen

Bei der Herstellung der verwendeten Formulierungen wurden folgende Stoffe eingesetzt:

Marcol 52 : ein hochgereinigtes Mineralöl = Paraffinöl
wurde für die w/o-Emulsionen IP 6792, 8166, 8656, 8167
sowie für die o/w-Emulsionen IP 6793 und 6794
verwendet

Isopropyl-
palmitat : ein Fettsäureester aus Palmitinsäure mit Isopropanol



Isopropylpalmitat wird u.a. als Hilfsstoff
(Penetrationsverbesserer) in dermatologischen
Präparaten verwendet (THOMA et al. 1983).

Intralipid : eine als Intralipid[®] 10 % oder Intralipid[®] 20 % zur
parenteralen Ernährung erhältliche Infusionslösung mit
einem Sojaölgehalt von 10 % bzw. 20 %, 1,2 %
Eiphasphatiden und 2,25 % Glycerol (ROTE LISTE 1986)

Saponin : s. 2.6.4.2

CP 20961 : s. 2.6.4.3

Carbomere : s. 2.6.4.4

Poloxamere : s. 2.6.4.5

Polascamere : = Poloxamere

3.1.7.2 Impfvirus

Der Impfstoff Colombovac[®] PMV enthielt (lt. Gebrauchsinformation) mindestens 10^9 EID₅₀ inaktiviertes Newcastle-Disease-Virus, Stamm La Sota pro Dosis (0,2 ml).

Alle anderen Impfstoffformulierungen enthielten einen aus Tauben isolierten Virusstamm. Dieser Stamm geht zurück auf ein von RICHTER (1983) am Institut aus Rassetauben isoliertes Virus, das als PMV-1/pigeon/Munich/14/83 bezeichnet und dem Serotyp 1 der aviären Paramyxoviren zugeordnet wird. Das Clone P₃G dieses Virusstammes diente als Antigen für diese Impfstoffe. Es war - formalininaktiviert - in einer Menge von mindestens 56 hämaagglutinierenden Einheiten pro Dosis enthalten.

3.1.7.3 Blutentnahme, Serumgewinnung

Den Tieren wurde nach Entfernen einiger Federn und Alkoholdesinfektion der Haut mit 0,7 x 32 mm Kanülen auf 2-ml-Spritzen (beides Fa. Braun, Melsungen) ca. 1,5 ml Blut aus der V. cutanea ulnaris entnommen und sofort in Polystyrol-Röhrchen (Fa. Greiner, Nürtingen) überführt.

Die Proben blieben über Nacht im Kühlschrank bei 4° C, wurden nach Aufrühren mit einem Kunststoffstäbchen 10 Min. bei 2000 x g zentrifugiert, das Serum in andere PS-Röhrchen abgegossen und anschließend untersucht. Nur in Ausnahmefällen wurden Serumproben bis zur Untersuchung bei -18° C gelagert.

3.1.7.4 Antikörperbestimmung

Die Antikörperbestimmung der Seren erfolgte mit der β -Methode des Hämaagglutinationshemmungstests (HAH) im Mikrotitersystem gegen 4 hämaagglutinierende Einheiten des PMV- bzw. NDV-Antigens. Als Antigene dienten NDV-Montana und PMV-1/pigeon/Munich/14/83.

Zur Einstellung der Antigensuspension auf 4 hämagglutinierende Einheiten pro 0,025 ml wurde vor jedem HAH ein Hämagglutinationstest (HA) - ebenfalls im Mikrotitersystem - durchgeführt.

Die Durchführung von HAH und HA erfolgte in Anlehnung an KALETA et al. (1972) in der von KNOLL (1986) angegebenen Ausführung mit dem einen Unterschied, daß anstatt physiologischer Kochsalzlösung als Verdünnungsmedium der Seren, der Antigene und der Erythrozyten Phosphatpufferlösung (PBS) pH 7,2 (HEIL 1984; KNOLL 1986) verwendet wurde.

3.1.7.5 Versuch 1: Wirksamkeitsuntersuchung (Tauben Nr. 1 - 156)

Die Wirkung, auf der hier das Hauptaugenmerk lag, wurde durch den Antikörnernachweis geprüft. Der Versuch mußte aus Platzgründen in mehreren Durchgängen mit meist 5-wöchiger, in einigen Fällen 7-wöchiger Dauer ausgeführt werden. Dabei befanden sich immer einige Kontrolltauben im Stall.

Jeweils 4 Tauben (in einigen Fällen auch 8 bzw. 16) wurden mit je 0,25 ml (Ausnahme Colombovac® PMV je 0,2 ml) der entsprechenden Antigen-Adjuvans-Zubereitungen subcutan im Nacken geimpft.

Bei der Impfung wurde die Injektionsstelle auf der Haut mit einem schwarzen, wasserfesten Filzstift (Edding 3000) markiert, in 1-wöchigen Abständen allen Tauben Blut zur Antikörperbestimmung entnommen und bei dieser Gelegenheit die Injektionsstelle durch Palpation auf Veränderungen kontrolliert. Nötigenfalls wurde die Farbmarkierung erneuert.

War am Ende des Versuchszeitraums eine Veränderung palpierbar, wurde die veränderte Stelle entnommen und histologisch untersucht (siehe dort).

Über die verwendeten Impfstoffformulierungen gibt Tab. 4 Auskunft.

Tab. 4: Die verwendeten Impfstoffformulierungen

<u>Stabile Emulsionen:</u>		
1	w/o-Emulsion mit Marcol 52	IP 6792, IP 8166, IP 8656
2	w/o-Emulsion mit Marcol 52 Placebo (ohne Antigen)	IP 8167
3	w/o-Emulsion Isopropylpalmitat	IP 6799
4	o/w-Emulsion A (mit Marcol 52)	IP 6793
5	o/w-Emulsion B (mit Marcol 52)	IP 6794
6	Intralipid 10 %	IP 6796
<u>Polymere:</u>		
7	Carbopol	IP 6798
8	Carbopol + Polascamer A	IP 7001
9	Carbopol + Polascamer B	IP 7003
10	Polascamer A	IP 7002
11	Polascamer B	IP 7004
12	Carbomer 1 0,5 %	IP 8171
13	Carbomer 2 0,5 %	IP 8172
14	Carbomer 3 0,5 %	IP 8168, IP 8657
15	Carbomer 3 0,5 % + Poloxamer B	IP 8658
16	Carbomer 4 0,5 %	IP 8169, IP 8659
17	Carbomer 4 0,5 % + Poloxamer B	IP 8660
18	Carbomer 5 0,5 %	IP 8170
19	Carbomer 5 2,0 %	IP 8174
20	Carbomer 5 0,5 % + Poloxamer C 4,8 %	IP 8175
21	Carbomer 5 2,0 % + Poloxamer C 4,8 %	IP 8176
22	Poloxamer C 4,8 %	IP 8173
23	Colombovac® PMV	--
<u>Sonstige Formulierungen:</u>		
24	CP 20961 als Suspension	IP 6795
25	Saponin	IP 6797
26	ohne Adjuvans (AG in physiolog. Kochsalzlösung)	IP 8655
Alle Formulierungen (bei Emulsionen die Wasserphase) wurden auf Isotonie und einen pH von etwa 7 eingestellt.		

3.1.7.6 Versuch 2: Verträglichkeitsuntersuchung (Tauben Nr. 157 - 186)

Der Schwerpunkt dieses Versuchs, die Verträglichkeit, wurde durch Palpation und histologische Untersuchung der Injektionsstelle geprüft. Die Injektion wurde, nach einem Vorschlag von BRÜCKNER (1987), weiter kaudal zu injizieren, über den letzten Halswirbeln ausgeführt.

Die 15 Tauben der Gruppe I wurden mit je 0,25 ml der Carbomer-Vaccine (Carbomer 4 + Poloxamer B IP 8660), die 10 Tauben der Gruppe II mit je 0,25 ml der Ölemulsionsvakzine (w/o-Emulsion mit Marcol 52 IP 8656) geimpft, 5 Tauben waren zur Kontrolle im selben Stall.

Bei der Impfung wurde die Injektionsstelle auf der Haut mit schwarzem, wasserfestem Filzstift (Edding 3000) markiert.

In 1-wöchigen Abständen wurde allen Tauben Blut zur Antikörper-Bestimmung entnommen und von Gruppe I jeweils 3, von Gruppe II jeweils 2 Tiere euthanasiert und die Injektionsstelle histologisch untersucht (siehe dort). Alle (jeweils noch vorhandenen) Tauben wurden am 2., 4., 7., 9., 11., 14., 21., 28. und 35. Tag adspektorisch auf Störungen des Allgemeinbefindens untersucht.

Außerdem wurde jeweils die Injektionsstelle palpiert und gegebenenfalls die Hautmarkierung erneuert.

3.1.7.7 Versuch 3: Langzeituntersuchung (Tauben Nr. 187 - 216)

20 Tauben wurden mit je 0,25 ml Carbomer-Vakzine (Carbomer 4 + Poloxamer B IP 8660) geimpft und in 2 Gruppen zusammen mit je 5 Kontrolltauben gehalten.

In 4-wöchigem Abstand wurde allen Tieren Blut entnommen und auf Antikörper untersucht.

3.1.7.8 Histologie

Die Tauben aus Versuch 1, bei denen am Ende des Versuchs Veränderungen an der Injektionsstelle palpiert wurden, sowie alle Tauben aus Versuch 2 wurden mit T 61° euthanasiert, das Gewebe der Injektionsstelle steril entnommen und ein Teil der Probe zur bakteriologischen Untersuchung ver-

wendet. Dabei wurde notiert, ob am lebenden Tier Veränderungen an der Injektionsstelle palpierbar waren und ob am getöteten Tier Veränderungen sichtbar oder palpierbar waren. Diese grobsinnlich wahrnehmbaren Veränderungen wurden mit den Ergebnissen der histologischen Untersuchung verglichen.

In einigen Fällen war die Injektionsstelle nicht mehr exakt feststellbar, da weder makroskopisch noch palpatorisch Veränderungen wahrnehmbar waren. In diesen Fällen wurde ein Gewebestück dort entnommen, wo die Injektionsstelle aufgrund der Markierung zu vermuten war.

Die Gewebestückchen wurden in Bouin'scher Lösung fixiert, nach Entfernen der Federn in Paraffin eingebettet, 3 (bis 6) μ m dicke Schnitte angefertigt und mit Hämatoxylin-Eosin (H. E.) gefärbt.

Von 10 ungeimpften Tauben wurden in gleicher Weise Kontrollschnitte zum Vergleich angefertigt und zwar jeweils 10 Schnitte von Haut und Unterhaut im Nacken (Kontrolle für Versuch 1) und 10 Schnitte von Haut und Unterhaut dorsal der letzten Halswirbel (Kontrolle für Versuch 2).

Die bakteriologischen Untersuchungen wurden vom entsprechenden Labor unseres Institutes ausgeführt. Dazu wurden die Proben auf Blut- und Endoagar ausgestrichen und in Tetrathionat-Bouillon angereichert. Bei den Tieren aus Versuch 2 (157 - 186) wurden zusätzlich Proben von Herz und Leber mituntersucht.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Hauttemperaturmessung

Es sollte geprüft werden, ob mit dem Hautfühler eines elektronischen Thermometers an der Impfstelle eine Temperaturerhöhung als Ausdruck einer lokalen Entzündung meßbar ist.

Die Messung erwies sich als schwierig durchführbar, da der Fühler bis zur Temperaturkonstanz exakt auf derselben Hautstelle verbleiben muß. Auch bei guter Fixierung kann eine Bewegung der Taube durch Verlagerung der Federkiele ein leichtes Verrutschen der Sonde bewirken, was eine Korrektur der Lage erforderlich macht.

Trotz sorgfältiger Meßmethode ergaben die in einem Zeitraum von etwa 2 1/2 Std. durchgeführten Messungen große Temperaturdifferenzen. Bei Messungen an jeweils derselben Taube bewegten sich diese Differenzen zwischen 0,1° C und 1,6° C (bei aufeinanderfolgenden Messungen) und stiegen bis 1,8° C von der 1. zur 4. Messung an. Bei Messungen an verschiedenen Tauben erreichten sie den Maximalwert von 2,4° C. Über die Einzelwerte gibt Tab. 5 Auskunft.

Diese Temperaturdifferenzen sind auf die Erregung durch den Meßvorgang und auf natürliche Schwankungen zurückzuführen. Sie würden unter Einbeziehung von höheren Tierzahlen und bei Durchführung zu verschiedenen Tageszeiten sicher noch größer werden.

Schon die gefundenen Werte lassen aber den Schluß zu, daß eine durch eine lokale Entzündung hervorgerufene lokale Hauttemperaturerhöhung nicht sicher von den Werten innerhalb der natürlichen Streuung unterschieden werden könnte.

Die Methode wurde deshalb als für diese Fragestellung ungeeignet aufgegeben.

Tab. 5: Ergebnisse der Hauttemperaturmessung

		1. Messung in °C	2. Messung in °C	3. Messung in °C	4. Messung in °C
Taube A	Hals	41,9	41,0	39,9	41,2
	Brust	40,9	41,7	42,0	41,1
Taube B	Hals	42,1	41,3	40,9	40,6
	Brust	42,1	41,5	41,3	41,1
Taube C	Hals	42,3	41,4	40,6	40,5
	Brust	41,0	41,3	40,6	41,6
Taube D	Hals	41,6	40,9	40,3	40,9
	Brust	42,1	40,9	41,0	40,5
Taube E	Hals	41,6	42,2	42,1	40,5
	Brust	41,9	40,9	41,1	40,8

3.2.2 Luftsackausdehnung im kaudalen Halsbereich

An der frischtoten, aufgeblasenen Taube sah man nach Abpräparieren der Haut von den Luftsäcken nur wenig. Dort wo die bemuskelte Halswirbelsäule (HWS) in den Körper übergeht, traten beiderseits der HWS nach dorsal und nur wenig nach kranial vortretend zwei Ausbuchtungen der Luftsäcke mit einem Durchmesser von knapp 1 cm hervor. Dabei dürfte es sich um die rechten und linken kranialen Abschnitte des Schlüsselbeinluftsackes (Saccus clavicularis) gehandelt haben.

Weder an der bemuskelten HWS noch am bemuskelten Rücken der Taube wurden Luftsackteile sichtbar.

Erst bei starkem Aufblasen der Taube zeigte sich unter dem rechten und linken Musculus complexus major im Nacken der Taube Luftsackausbuchtungen, die die beiden Muskeln von der HWS abhoben. Diese Ausbuchtungen gehören zum zervikalen Divertikelsystem der beiden Halsluftsäcke (Sacci cervicales).

Bei der subcutanen Injektion im kaudalen Halsbereich der Taube besteht also bei richtiger Technik nicht die Gefahr einer versehentlichen Arzneimittelanwendung in das Luftsacksystem.

3.2.3 Impfstoffe mit Röntgenkontrastmitteln

Nach Injektion von Impfstoffformulierungen mit Jopamidol war schon nach recht kurzer Zeit im Röntgenbild kein Kontrast mehr feststellbar.

Bei den Formulierungen mit CP 20961 (IP 6992) und mit Saponin (IP 6994) war dies schon nach 2 Std., bei der Formulierung mit Carbopol (IP 6995) nach 4 Std. der Fall (siehe Tab. 6).

Der Kontrast der o/w-Emulsion A (IP 6990) war bei einer Taube 1 Tag p.inj. als fraglich, am 2. Tag bei allen 4 Tauben negativ zu beurteilen. Ähnliches ergab sich bei den Formulierungen o/w-Emulsion B (IP 6991) und Intralipid 10 % (IP 6993). Bei ersterer waren am 1. Tag p.inj. noch

2 Tauben, bei letzterer 1 Taube als positiv anzusehen, am 2. Tag waren bei beiden Formulierungen keine Kontraste mehr sichtbar.

Bei 2 mit der Isopropylpalmitat-Formulierung (IP 6996) geimpften Tauben war am 2. Tag p.inj. noch ein Röntgenkontrast erkennbar.

Am längsten waren Kontraste bei der w/o-Emulsion mit Marcol 52 (IP 6989) nachweisbar; hier zeigte 1 Taube am 2. Tag p.inj., eine andere Taube am 3. Tag noch eindeutigen Kontrast, bei den beiden anderen war Kontrast bis zum 1. Tag sichtbar.

Die einzelnen Ergebnisse der beiden Versuchsdurchgänge sind Tab. 6 und Tab. 7 zu entnehmen.

Tab. 6: Nachweis von Röntgenkontrastmittel an der Injektionsstelle
nach Injektion kontrastmittelhaltiger Impfstoffe (Serie 1)

Impfstoff- formulierung	Zeit										
	p. inj.										
	5	2	4	6	8	22	30	46	70	98	
	Min.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	Std.	
	Tag	0	0	0	0	0	1	1	2	3	4
	p. inj.										
Impfstoff- formulierung	Tauben Nr.										
w/o-Emulsion mit Marcol 52 IP 6989	I	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
o/w-Emulsion A IP 6990	II	+	+/-	-							
o/w-Emulsion B IP 6991	III	+	+/-	-							
CP 20961 IP 6992	IV	+	-	-							
Intralipid 10 % IP 6993	V	+	+	+/-	-						
Saponin IP 6994	VI	+	-	-							
Carbopol IP 6995	VII	+	+	-							
Isopropylpalmitat IP 6996	VIII	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	-
+ Kontrastmittel deutlich nachweisbar +/- Kontrastmittel schwach nachweisbar - Kontrastmittel nicht nachweisbar											

Tab. 7: Nachweis von Röntgenkontrastmittel an der Injektionsstelle
nach Injektion kontrastmittelhaltiger Impfstoffe (Serie 2)

Impfstoffformulierung	Tauben Nr.	Tag post injectionem						
		0	1	2	3	4	5	8
w/o-Emulsion m. Marcol 52 IP 6989	1	+	+	-				
	2	+	+	+	+	+/-	+/-	-
	3	+	+	-				
o/w-Emulsion A IP 6990	4	+	-					
	5	+	-					
	6	+	+/-	-				
o/w-Emulsion B IP 6991	7	+	+	-				
	8	+	-					
	9	+	+	-				
CP 20961 IP 6992	10	+	-					
	11	+	-					
	12	+	-					
Intralipid 10 % IP 6993	13	+	-					
	14	+	-					
	15	+	+	-				
Saponin IP 6994	16	+	-					
	17	+	-					
	18	+	-					
Carbopol IP 6995	19	+	-					
	20	+	-					
	21	+	-					
Isopropylpalmitat IP 6996	22	+	+	+	+/-	-		
	23	+	+	-				
	24	+	+/-	-				
		+ Kontrastmittel deutlich nachweisbar +/- Kontrastmittel schwach nachweisbar - Kontrastmittel nicht nachweisbar						

3.2.4 Ergebnisse der Antikörperbestimmung

Die Seren der in allen Versuchen mituntersuchten Kontrolltiere waren immer frei von AK gegen PMV-1/pigeon/Munich/14/83 und NDV-Montana. Die Tiere waren während aller Versuche klinisch gesund.

3.2.4.1 Titerwerte aus Versuch 1

In der Gruppe der Emulsionen erbrachte die w/o-Emulsion mit Marcol 52 (IP 6792, IP 8166, IP 8656) die besten Resultate. Die PMV-Titer erreichten 1:32 als Höchstwert. 2 Tauben blieben allerdings ohne meßbare Antikörper.

Niedrige Werte bei 3 von 4 Tauben ergab die w/o-Emulsion mit Isopropylpalmitat (IP 6799) mit Titerwerten bis 1:4.

Die o/w-Emulsion B (IP 6794) und die Emulsion Intralipid 10 % (IP 6796) induzierten nur bei jeweils einer Taube (von 8 bzw. 4 Tauben) niedrige AK-Titer, die o/w-Emulsion A (IP 6793) bei 2 Tauben (von 8 Tauben). Die w/o-Emulsion "Placebo" mit Marcol 52 (IP 8167) induzierte - da ohne Antigen - keine Antikörpertiter.

In der Gruppe der Polymere gab es große Unterschiede. Drei Formulierungen induzierten keine meßbaren AK-Titer. Es waren die beiden Formulierungen mit nur Polascamer A bzw. B (IP 7002 bzw. IP 7004) und die Formulierung Carbomer 5 0,5 % + Poloxamer C 4,8 % (IP 8175).

Die zweite Kombination von Carbomer 5 mit Poloxamer C (IP 8176) induzierte ebenso wie die beiden Formulierungen mit Carbomer 5 allein (IP 8170 und IP 8174) und die Formulierung mit Poloxamer C allein (IP 8173) nur bei einem Teil der Tauben niedrige AK-Titer. Ähnliches gilt für die Formulierung mit Carbomer 1 (IP 8171).

Besser schnitten Carbopol (IP 6798), Carbomer 2 0,5 % (IP 8172), Carbomer 3 0,5 % (IP 8168 und IP 8657) und Carbomer 4 0,5 % (IP 8169 und IP 8659) ab. Sie induzierten Titerwerte bis 1:16, bei einem Teil der Tauben waren aber keine AK nachweisbar.

Die restlichen vier Polymer-Impfstoffe (Colombovac^o PMV, IP 7001, IP 7003 und IP 8660) induzierten bei allen Tauben Antikörper. Die Titer-

höhe schwankte aber zwischen 1:2 und 1:64. Die Formulierung Carbomer 4 + Poloxamer B (IP 8660) induzierte die höchsten AK-Titer in dieser Gruppe.

Andere Formulierungen: Die mit CP 20961 (IP 6795) geimpften Tauben wiesen nur zum Teil meßbare AK-Titer auf. Die Titer waren nur bis 1:4 hoch und nur bis zur 3. Woche p.inj. nachweisbar. Die Formulierung mit Saponin (IP 6797) induzierte ebenso wie die Formulierung ohne Adjuvans (AG nur in physiolog. Kochsalzlösung IP 8655) keine meßbaren AK-Titer.

Somit kann man die geprüften Formulierungen nach ihrer Wirkung in 4 Gruppen einteilen:

Gute Wirkung (bei mehr als 75 % der Tauben AK-Titer; dabei auch Titer von 1:16 und höher) entfalteten:

w/o-Emulsion mit Marcol 52	(IP 6792, IP 8166, IP 8656)
Carbomer 3 0,5 %	(IP 8168, IP 8657)
Carbomer 3 0,5 % + Poloxamer B	(IP 8658)
Carbomer 4 0,5 %	(IP 8169, IP 8659)
Carbomer 4 0,5 % + Poloxamer B	(IP 8660)
Colombovac ^o PMV	(-)

Mittlere Wirkung (AK-Titer bei mehr als 50 % bis 75 % der Tauben) entfalteten:

w/o-Emulsion Isopropylpalmitat	(IP 6799)
Carbopol	(IP 6798)
Carbopol + Polascamer A	(IP 7001)
Carbopol + Polascamer B	(IP 7003)*

* Wegen nur sporadischer und niedriger AK-Titerwerte von Tauben Nr. 73 und Nr. 74 wurde IP 7003 nicht in die Gruppe mit guter Wirkung eingeordnet.

Schlechte Wirkung (AK-Titer bei 50 % der Tiere oder weniger; dabei Titer meist vereinzelt) hatten:

o/w-Emulsion A	(IP 6793)
o/w-Emulsion B	(IP 6794)
Intralipid 10 %	(IP 6796)
Carbomer 1 0,5 %	(IP 8171)
Carbomer 2 0,5 %	(IP 8172)
Carbomer 5 0,5 %	(IP 8170)
Carbomer 5 2,0 %	(IP 8174)
Carbomer 5 2,0 % + Poloxamer C 4,8 %	(IP 8176)
Poloxamer C 4,8 %	(IP 8173)
CP 20961 als Suspension	(IP 6795)

Keine Wirkung (keine AK-Titer) zeigten:

w/o-Emulsion mit Marcol 52 Placebo (ohne Antigen)	(IP 8167)
Polascamer A	(IP 7002)
Polascamer B	(IP 7004)
Carbomer 5 0,5 % + Poloxamer C 4,8 %	(IP 8175)
Saponin	(IP 6797)
ohne Adjuvans (AG in physiolog. Kochsalzlösung)	(IP 8655)

Die Einzelergebnisse sind Tab. 8 bis Tab. 17 zu entnehmen.

Die unterschiedliche Länge der Versuchszeiträume (anfangs 7 Wochen, später 5 Wochen) ist durch die Aufteilung von Versuch 1 in mehrere Durchgänge bedingt.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurden für Versuch 2 und 3 folgende Formulierungen ausgewählt:

Versuch 2: w/o-Emulsion mit Marcol 52 (IP 8656)
(entspricht Para-myxo-vac Vemie^o),
Carbomer 4 + Poloxamer B (IP 8660).

Versuch 3: Carbomer 4 + Poloxamer B (IP 8660).

Tab. 8:
HAH-Titerwerte nach Impfung mit IP 6792, IP 8166 und IP 8656 (Versuch 1)

Impfstoff- formulierung	*	1. Woche PMV NDV	2. Woche PMV NDV	3. Woche PMV NDV	4. Woche PMV NDV	5. Woche PMV NDV	6. Woche PMV NDV	7. Woche PMV NDV
w/o-Emulsion mit Marcol 52 IP 6792	1	-	1:32	1:16	1:32	1:16	1:16	1:16
	2	-	1:16	1:16	1:16	1:8	1:16	1:8
	3	-	1:2	-	1:2	1:2	1:2	1:4
	4	-	-	-	-	-	-	-
	48	-	1:8	1:2	1:2	1:2	1:2	1:4
	49	-	-	1:2	1:2	1:2	-	1:2
	50	-	-	1:4	1:2	1:2	1:2	1:2
	51	-	1:2	-	1:8	1:4	1:2	1:2
w/o-Emulsion mit Marcol 52 IP 8166	84	-	-	1:4	1:8	1:8	1:4	1:4
	85	-	-	1:2	1:2	1:2	1:2	1:2
	86	-	-	-	-	-	-	-
	87	-	-	1:2	1:2	1:4	1:4	1:4
	133	-	1:8	1:8	1:32	1:16	1:16	1:16
w/o-Emulsion mit Marcol 52 IP 8656	134	-	1:4	1:4	1:4	1:32	1:32	1:32
	135	-	1:16	1:2	1:8	1:32	1:16	1:16
	136	-	1:2	1:4	1:4	1:16	1:16	1:16
	136	-	1:8	1:2	1:2	1:8	1:8	1:8

* Taube Nr.
Antigen: PMV = PMV-1/pigeon/Munich/14/83; NDV = Newcastle Disease Virus Stamm Montana

Tab. 9:
HAH-Titerwerte nach Impfung mit IP 8167, IP 6799 und IP 6793 (Versuch 1)

Impfstoff- formulierung	*	1. Woche PMV NDV	2. Woche PMV NDV	3. Woche PMV NDV	4. Woche PMV NDV	5. Woche PMV NDV	6. Woche PMV NDV	7. Woche PMV NDV
w/o-Emulsion Placebo IP 8167	88	-	-	-	-	-		
	89	-	-	-	-	-		
	90	-	-	-	-	-		
	91	-	-	-	-	-		
w/o-Emulsion Isopropylpalmitat IP 6799	29	-	-	1:4	1:4	1:4	1:2	1:4
		-	-	-	-	1:2	1:2	1:2
	30	-	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4
		-	-	-	-	1:2	1:2	1:2
	31	-	-	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4
o/w-Emulsion A IP 6793		-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	-	-	-
	7	-	1:2	-	-	-	-	1:2
		-	-	-	-	-	-	-
	8	-	1:8	1:4	1:2	1:2	1:2	1:8
		1:2	1:4	1:4	1:2	1:2	1:2	1:4
	52	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-
	53	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-
	54	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-
	55	-	-	-	-	-	-	-

* Taube Nr.

Antigen: PMV = PMV-1/pigeon/Munich/14/83; NDV = Newcastle Disease Virus Stamm Montana

Tab. 10:
HAH-Titerwerte nach Impfung mit IP 6794 und IP 6796 (Versuch 1)

Impfstoff- formulierung	*	1. Woche		2. Woche		3. Woche		4. Woche		5. Woche		6. Woche		7. Woche	
		PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV
o/w-Emulsion B IP 6794		-		1:4		1:2		1:2		-		1:2		1:4	
	9	-		1:2		1:2		-		-		-		-	
	10	-		-		-		-		-		-		-	
	11	-		-		-		-		-		-		-	
	12	-		-		-		-		-		-		-	
	56	-		-		-		-		-		-		-	
	57	-		-		-		-		-		-		-	
	58	-		-		-		-		-		-		-	
	59	-		-		-		-		-		-		-	
Intralipid 10 % IP 6796	17	-		1:2		-		1:2		-		-		1:2	
	18	-		-		-		-		-		-		-	
	19	-		-		-		-		-		-		-	
	20	-		-		-		-		-		-		-	
		-		-		-		-		-		-		-	

* Taube Nr.
Antigen: PMV = PMV-1/pigeon/Munich/14/83; NDV = Newcastle Disease Virus Stamm Montana

Tab. 11:
HAH-Titerwerte nach Impfung mit IP 6798, IP 7001 und IP 7003 (Versuch 1)

Impfstoff- formulierung	*	1. Woche		2. Woche		3. Woche		4. Woche		5. Woche		6. Woche		7. Woche	
		PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV
Carbopol IP 6798		-		-		-		1:2		-		-		1:2	
	25	-		-		-		-		-		-		-	
		-		-		-		-		-		-		-	
	26	-		-		-		-		-		-		-	
		-		-		1:2		-		-		-		1:2	
	27	-		-		-		-		-		-		-	
		-		-		-		-		-		-		-	
	28	-		-		-		-		-		-		-	
		-		-		-		1:4		1:2		1:2		1:2	
Carbopol + Polascamer A IP 7001	60	-		-		-		-		1:4		1:2		1:2	
		-		-		1:8		1:8		1:8		1:4		1:4	
	61	-		-		-		1:4		1:8		1:2		1:2	
		-		1:2		1:4		1:4		1:4		1:2		1:2	
	62	-		-		-		1:2		-		-		1:2	
		-		-		-		-		1:2		-		1:2	
	63	-		-		-		-		-		-		1:2	
		-		-		-		-		-		-		1:2	
		-		-		-		1:4		1:4		1:2		-	
Carbopol + Polascamer B IP 7003	64	-		-		-		-		-		-		-	
		-		-		1:8		1:8		1:4		1:4		1:4	
	65	-		-		1:2		1:2		-		-		1:2	
		-		-		1:2		1:2		1:2		-		-	
	66	-		-		-		-		-		-		-	
		-		-		1:4		1:8		1:4		1:4		1:4	
	67	-		-		1:2		1:2		-		1:2		-	
		-		-		-		1:16		1:16		1:8		1:8	
	72	-		-		-		1:4		1:8		1:4		1:4	
		-		-		-		1:4		1:2		-		1:2	
	73	-		-		-		-		-		-		-	
		-		1:2		-		-		-		-		-	
	74	-		-		-		-		-		-		-	
		-		-		-		1:2		1:4		1:4		1:2	
	75	-		-		1:4		-		1:4		1:2		1:2	

* Taube Nr.

Antigen: PMV = PMV-1/pigeon/Munich/14/83; NDV = Newcastle Disease Virus Stamm Montana

Tab. 12:

HAH-Titerwerte nach Impfung mit IP 7002, IP 7004, IP 8171 und IP 8172 (Versuch 1)

Impfstoff- formulierung	*	1. Woche		2. Woche		3. Woche		4. Woche		5. Woche		6. Woche		7. Woche	
		PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV
Polascamer A IP 7002	68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	71	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	76	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polascamer B IP 7004	77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	104	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carbomer 1 0,5 % IP 8171	105	-	-	-	-	1:2	-	1:2	-	-	-	-	-	-	-
	106	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	107	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	108	-	-	-	-	-	-	-	-	**	-	-	-	-	-
Carbomer 2 0,5 % IP 8172	109	1:4	-	-	-	1:4	-	1:16	-	1:8	-	-	-	-	-
	110	1:4	-	-	-	-	-	1:4	-	1:2	-	-	-	-	-
	111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* Taube Nr.

** verstorben; patholog.-anat. Diagnose: Viszeralgicht

Antigen: PMV = PMV-1/pigeon/Munich/14/83; NDV = Newcastle Disease Virus Stamm Montana

Tab. 13:
HAH-Titerwerte nach Impfung mit IP 8168, IP 8657 und IP 8658 (Versuch 1)

Impfstoff- formulierung	*	1. Woche		2. Woche		3. Woche		4. Woche		5. Woche	
		PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV
Carbomer 3 0,5 % IP 8168		-		-		-		1:2		1:2	
	92	-		-		-		-		1:2	
		-		-		-		-		-	
	93	-		-		-		-		-	
	94	-		-		1:8		1:16		1:16	
Carbomer 3 0,5 % IP 8657		-		-		1:4		1:8		1:16	
	95	-		-		-		-		-	
		-		-		1:2		1:16		1:16	
	137	-		-		-		1:8		1:8	
		-		1:2		1:2		1:4		1:16	
Carbomer 3 0,5 % IP 8658	138	-		-		-		1:2		1:8	
		-		-		1:2		1:8		1:16	
	139	-		-		-		1:2		1:4	
		-		-		-		1:16		1:32	
	140	-		-		1:2		1:8		1:32	
Carbomer 3 0,5 % + Poloxamer B IP 8658		-		-		-		1:4		1:16	
	141	-		-		-		-		-	
		-		-		-		1:4		1:8	
	142	-		-		-		-		1:2	
		-		-		-		1:4		1:4	
	143	-		-		-		1:2		1:4	
	144	-		-		1:2		1:16		1:32	
* Taube Nr. Antigen: PMV = PMV-1/pigeon/Munich/14/83; NDV = Newcastle Disease Virus Stamm Montana											

Tab. 14:
HAH-Titerwerte nach Impfung mit IP 8169, IP 8659 und IP 8660 (Versuch 1)

Impfstoff- formulierung	*	1. Woche		2. Woche		3. Woche		4. Woche		5. Woche	
		PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV
Carbomer 4 0,5 % IP 8169		-		-		1:8		1:8		1:4	
	96	-	-	-	-	1:8		1:8		1:4	
		-		-		1:4		1:4		1:4	
	97	-	-	-	-	1:4		1:4		1:8	
	98	-	-	-	-	-		-		-	
Carbomer 4 0,5 % IP 8659	99	-	-	-	-	1:4		1:16		1:16	
		-		-		-		-		1:2	
	145	-	-	1:2	-	1:2		1:8		1:16	
		-		1:2		1:8		1:32		1:64	
	146	-	-	-	-	-		1:2		1:16	
Carbomer 4 0,5 % + Poloxamer B IP 8660	147	-	-	1:2	-	1:8		1:16		1:32	
		-		-		-		1:2		1:8	
	148	-	-	-	-	-		-		1:2	
		-		1:2		1:2		1:8		1:16	
	149	-	-	-	-	-		-		1:4	
		-		1:4		1:4		1:32		1:64	
	150	-	-	-	-	-		1:2		1:8	
		-		1:2		1:8		1:16		1:32	
	151	-	-	-	-	1:2		1:4		1:8	
	152	-	-	-	-	-		1:8		1:16	
		-		-		-		1:2		1:4	
* Taube Nr. Antigen: PMV = PMV-1/pigeon/Munich/14/83; NDV = Newcastle Disease Virus Stamm Montana											

Tab. 15: HAH-Titerwerte nach Impfung
mit IP 8170, IP 8174, IP 8175 und IP 8176 (Versuch 1)

Impfstoff- formulierung	*	1. Woche		2. Woche		3. Woche		4. Woche		5. Woche	
		PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV
Carbomer 5 0,5 % IP 8170	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	102	-	-	-	-	-	-	1:4	-	1:2	-
	103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carbomer 5 2,0 % IP 8174	116	-	-	-	-	-	-	-	-	1:2	-
		-	-	-	-	-	-	1:2	-	-	-
	117	-	-	-	-	-	-	1:2	-	-	-
	118	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	119	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carbomer 5 0,5 % + Poloxamer C 4,8 % IP 8175	120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	123	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carbomer 5 2,0 % + Poloxamer C 4,8 % IP 8176	124	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	126	-	-	-	-	-	-	-	-	1:4	-
	127	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
* Taube Nr.		Antigen: PMV = PMV-1/pigeon/Munich/14/83; NDV = Newcastle Disease Virus Stamm Montana									

Tab. 16:
HAH-Titerwerte nach Impfung mit IP 8173 und Colombovac® PMV (Versuch 1)

Impfstoff- formulierung	*	1. Woche		2. Woche		3. Woche		4. Woche		5. Woche		6. Woche		7. Woche	
		PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV
Poloxamer C 4,8 % IP 8173	112	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
	113	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
	114	-	-	1:4	-	1:2	-	-	-	-	-				
	115	-	-	-	-	-	-	1:2	-	1:2	-				
Colombovac® PMV	33	1:2	1:2	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4	1:2	1:2	1:4
	34	-	-	-	-	1:2	1:4	1:2	1:4	1:2	-	-	-	-	-
	35	-	-	1:2	1:2	-	1:2	-	1:2	-	-	-	-	-	1:2
	36	-	-	1:2	1:2	1:4	1:4	1:2	1:2	1:2	-	1:2	-	1:2	1:2
	37	-	-	-	1:2	1:2	1:8	-	1:4	-	1:2	-	-	-	-
	38	1:2	1:4	1:8	1:8	1:8	1:8	1:4	1:8	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4	1:8
	39	1:8	1:8	1:16	1:8	1:16	1:8	1:16	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8	1:8	1:4
	40	1:8	1:8	1:16	1:8	1:8	1:8	1:16	1:8	1:8	1:8	1:16	1:8	1:8	1:8
* Taube Nr. Antigen: PMV = PMV-1/pigeon/Munich/14/83; NDV = Newcastle Disease Virus Stamm Montana															

Tab. 17:
HAH-Titerwerte nach Impfung mit IP 6795, IP 6797 und IP 8655 (Versuch 1)

Impfstoff- formulierung	*	1. Woche PMV NDV	2. Woche PMV NDV	3. Woche PMV NDV	4. Woche PMV NDV	5. Woche PMV NDV	6. Woche PMV NDV	7. Woche PMV NDV
OP 20961 als Suspension IP 6795	13	-	-	-	-	-	-	-
	14	-	1:4 1:2	1:2	-	-	-	-
	15	-	1:4	1:2	-	-	-	-
	16	-	1:2	-	-	-	-	-
	16	-	-	-	-	-	-	-
Saponin IP 6797	21	-	-	-	-	-	-	-
	22	-	-	-	-	-	-	-
	23	-	-	-	-	-	-	-
	24	-	-	-	-	-	-	-
	80	-	-	-	-	-	-	-
	81	-	-	-	-	-	-	-
	82	-	-	-	-	-	-	-
	83	-	-	-	-	-	-	-
ohne Adjuvans IP 8655	129	-	-	-	-	-		
	130	-	-	-	-	-		
	131	-	-	-	-	-		
	132	-	-	-	-	-		
	132	-	-	-	-	-		

* Taube Nr.

Antigen: PMV = PMV-1/pigeon/Munich/14/83; NDV = Newcastle Disease Virus Stamm Montana

3.2.4.2 Titerwerte aus Versuch 2

Nach Impfung mit Carbomer 4 0,5 % + Poloxamer B (IP 8660) waren 2 Wochen p.inj. noch keine Antikörper meßbar.

In der 3. Woche wiesen von den noch verbliebenen 9 Tauben (6 Tauben waren bereits zur histologischen Untersuchung euthanasiert) 7 Tiere AK-Titer gegen PMV in Höhe zwischen 1:8 und 1:64 auf. Eine der beiden Tauben (Nr. 164), die zu diesem Zeitpunkt keine meßbaren Titer besaß, schied in der 3. Woche aus, die zweite (Nr. 168) in der 4. Woche.

Die mit w/o-Emulsion mit Marcol 52 (IP 8656) geimpfte Gruppe wies (so weit jeweils noch vorhanden) in der 2. Woche p.inj. durchgehend AK-Titer gegen PMV (Höhe zwischen 1:4 und 1:64) und in der 3. Woche gegen NDV auf.

Maximalwerte wurden bereits in der 3. Woche (bis zur 5. Woche) beobachtet, durch das allmähliche Ausscheiden der Tiere zur histologischen Untersuchung ist dies aber nur bedingt erfaßbar.

Die Einzelwerte sind Tab. 18 zu entnehmen.

Tab. 18:
HAH-Titerwerte nach Impfung mit IP 8660 und IP 8656 (Versuch 2)

Impfstoff- formulierung	*	1. Woche		2. Woche		3. Woche		4. Woche		5. Woche	
		PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV
Carbomer 4 0,5 % + Poloxamer B IP 8660	157	-	-								
	158	-	-								
	159	-	-								
	160	-	-	-	-						
	161	-	-	-	-						
	162	-	-	-	-						
	163	-	-	-	-	1:8	-				
	164	-	-	-	-	1:16	1:16				
	165	-	-	-	-	-	-				
	166	-	-	-	-	1:16	1:4	1:16	1:8		
	167	-	-	-	-	1:16	1:4	1:64	1:16		
	168	-	-	-	-	-	-	-	-		
	169	-	-	-	-	1:32	1:16	1:16	1:8	1:8	1:2
	170	-	-	-	-	1:64	1:4	1:32	1:16	1:8	1:2
	171	-	-	-	-	1:64	1:4	1:64	1:4	1:16	1:2
w/o-Emulsion mit Marcol 52 IP 8656	172	-	-								
	173	-	-								
	174	-	-	1:64	1:4						
	175	-	-	1:16	1:4						
	176	-	-	1:32	1:4	1:64	1:64				
	177	-	-	1:4	-	1:32	1:8				
	178	-	-	1:16	-	1:32	1:16	1:64	1:16		
	179	-	-	1:32	-	1:8	1:4	1:16	1:4		
	180	-	-	1:32	1:8	1:16	1:8	1:32	1:8	1:32	1:8
	181	-	-	1:4	-	1:16	1:4	1:32	1:8	1:8	1:2

* Taube Nr. Kontrolltauben: Nr. 182 - 186
Antigen: PMV = PMV-1/pigeon/Munich/14/83;
NDV = Newcastle Disease Virus Stamm Montana

3.2.4.3 Titerwerte aus Versuch 3

In diesem Versuch waren bei allen 20 mit Carbomer 4 + Poloxamer B (IP 8660) geimpften Tauben AK-Titer meßbar. Diese lagen bei der ersten Bestimmung 4 Wochen p.inj. zwischen 1:8 und 1:64 gegen PMV bzw. 1:4 und 1:32 gegen NDV.

Bereits bei der 2. Bestimmung (8 Wochen p.inj.) waren die Titerwerte auf die Hälfte oder weniger gesunken; bei 9 Tauben waren gegen das ND-Virus keine nachweisbaren Titer mehr vorhanden.

Bei der 3. Bestimmung (12 Wochen p.inj.) waren 9 Tauben ohne meßbare Titer gegen PMV und weitere 6 (also insgesamt 15) ohne meßbare Titer gegen NDV.

In der 24. Woche p.inj. (6. Bestimmung) hatten nur noch 4 Tauben AK-Titer in meßbarer Höhe gegen PMV, davon 2 Tauben auch gegen NDV.

Die Einzelwerte sind der Tab. 19 zu entnehmen.

Tab. 19:
HAH-Titerwerte nach Impfung mit IP 8660 (Versuch 3)

Impfstoff- formulierung	*	4. Woche		8. Woche		12. Woche		16. Woche		20. Woche		24. Woche	
		PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV	PMV	NDV
Carbomer 4 0,5 % + Poloxamer B IP 8660	187	1:64 1:16		1:8 1:2		1:2 -		- -		- -		- -	
	188	1:32 1:4		1:16 1:4		- -		1:8 1:2		1:8 1:2		1:8 1:2	
	189	1:16 1:8		1:8 -		- -		- -		- -		- -	
	190	1:16 1:4		1:4 -		- -		- -		- -		- -	
	191	1:64 1:8		1:8 1:2		- -		- -		- -		- -	
	192	1:64 1:4		1:4 -		- -		- -		- -		- -	
	193	1:64 1:8		1:4 -		- -		- -		- -		- -	
	194	1:64 1:8		1:16 1:4		1:8 1:2		- -		- -		- -	
	195	1:8 1:8		1:4 -		1:4 -		- -		- -		- -	
	196	1:32 1:8		1:16 1:4		1:4 1:2		- -		- -		- -	
	202	1:32 1:16		1:16 1:2		1:4 -		1:2 -		- -		- -	
	203	1:64 1:8		1:8 1:2		- -		- -		- -		- -	
	204	1:16 1:4		1:8 1:2		1:8 -		1:2 -		- -		- -	
	205	1:64 1:8		1:32 1:4		1:8 1:2		1:4 1:2		1:4 1:2		1:4 1:2	
	206	1:64 1:32		1:4 -		- -		- -		- -		- -	
	207	1:8 1:8		1:8 -		1:4 1:2		- -		- -		- -	
	208	1:32 1:16		1:8 1:4		1:8 -		1:2 -		1:2 -		1:2 -	
	209	1:32 1:8		1:16 1:4		1:8 1:2		- -		- -		- -	
	210	1:32 1:8		1:4 -		- -		- -		- -		- -	
	211	1:32 1:8		1:16 -		1:4 -		1:2 -		1:2 -		1:2 -	
* Taube Nr. Kontrolltauben: Nr. 197 - 201 und Nr. 212 - 216 Antigen: PMV = PMV-1/pigeon/Munich/14/83; NDV = Newcastle Disease Virus Stamm Montana													

3.2.5 Unerwünschte Wirkungen

3.2.5.1 Störungen des Allgemeinbefindens

Bei keiner der Tauben traten nach der Impfung Anzeichen eines gestörten Allgemeinbefindens auf.

3.2.5.2 Lokale Störungen

Lokale Störungen konnten bei zahlreichen Tauben beobachtet werden:

Bei Taube Nr. 22 (Saponin IP 6797) Federverlust über der Injektionsstelle (ca. $3 \times 5 \text{ cm}^2$) 3 Wochen p.inj.. Die Federn wuchsen nicht mehr nach.

Bei den anderen Tauben mit lokalen Störungen äußerten sich diese in palpierbaren Verdickungen an der Injektionsstelle von anfangs weicher, später derber Konsistenz. Sie entwickelten sich bis zur 1. Woche p.inj., manchmal noch bis zur 2. Woche und blieben unterschiedlich lange fühlbar. Dabei erreichten sie eine durchschnittliche Größe von 0,5 - 1 cm; in Einzelfällen erreichten sie 2 cm Durchmesser.

Bei Palpation im 1. Versuch, bei dem die Injektion subcutan mediodorsal im Nacken stattgefunden hatte, konnte mit einiger Übung, trotz der auch dort vorhandenen Federn und Federkiele, mit großer Sicherheit verdickte von unverdickter Haut unterschieden werden. Über die Einzelergebnisse gibt Tab. 20 Auskunft.

Bei der Palpation im 2. Versuch war die Situation unbefriedigend. Die neue Injektionsstelle ist für die Palpation mit 2 Fingern nicht so gut zugänglich. Außerdem liegt dort bei gutgenährten Tauben subcutanes Fettgewebe, das die sichere Unterscheidung von veränderter und unveränderter Haut sehr erschwert. Daß die Palpationsergebnisse aus Versuch 2 unzuverlässig sind, wird auch aus Tab. 21 ersichtlich, in der die nicht durch Linien verbundenen Sternchen zeigen, daß eine Verdickung bei einer Taube zwischenzeitlich nicht festgestellt werden konnte.

Über die Schmerzhaftigkeit solcher Verdickungen können keine Angaben gemacht werden, da die Tauben schon bei der Palpation an sich gelegentlich Abwehrbewegungen machten. Diese schienen mehr vom Individuum als von eventueller Schmerzhaftigkeit abhängig zu sein.

Tab. 20: Palpation Versuch 1 (Nr. 1 - 156)

Tauben Nr.	Verdickung palpierbar von - bis (Woche p.inj.)						
	1	2	3	4	5	6	7
34		*	*	*	*	*	*E
35		*	*	*	*		E
40		*	*	*	*	*	*E
51	*	*	*	*	*	*	*E
64		*	*	*	*	*	*E
92	*	*	*	*	*E		
94	*	*	*	*	*E		
96	*	*	*	*	E		
114	*	*	*	*	E		
119	*	*	*	*	*E		
121	*	*	*	*	E		
122	*	*	*		E		
123	*	*	*	*	E		
128	*				E		
133	*	*	*	*	E		
135	*	*	*	*	*E		
137	*	*	*	*	*E		
138	*	*			E		
140		*			E		
143	*	*			E		
144	*	*	*	*	*E		
150	*	*	*	*	E		
E = Versuchsende							

Tab. 21: Palpation Versuch 2 (Nr. 157 - 186)

Verdickung palpierbar von - bis (Tag bzw. Woche p.inj.)	
Wo. d. Uts.	1 2 3 4 5
Tag d. Uts.	2 4 7 9 11 14 21 28 35
Taube Nr.	
159	* — *E
160	* — * — * — * — *E
161	* — *E
162	* E
163	* * E
164	* * E
165	* E
167	* — * — * — * — * — * — *E
169	* * E
170	* * * E
171	* — * — * E
173	*E
177	* — * — * E
179	* E
Tag d. Uts.	2 4 7 9 11 14 21 28 35
Wo. d. Uts.	1 2 3 4 5
Uts.= Untersuchung E= Versuchsende	

3.2.6 Histologische Ergebnisse

3.2.6.1 Befunde aus Versuch 1

Die Veränderungen der Tiere Nr. 34 und Nr. 40 waren histologisch nicht beurteilbar. Sie wurden nicht wie beschrieben bearbeitet, sondern es wurden Gefrierschnitte angefertigt, die allerdings nicht gut gelungen waren. Nicht zuletzt deshalb wurden von den später angefallenen Proben Paraffinschnitte hergestellt. Für Paraffinschnitte stand aber von den Tauben Nr. 34 und 40 (nach dem Gefrierschneiden) kein Probenmaterial mehr zur Verfügung.

Bei Nr. 51 und Nr. 135 (w/o-Emulsion mit Marcol 52 IP 6792 bzw. IP 8656) waren Vakuolen in verschiedener Größe in den Muskelfasern der augenfälligste Befund. Daneben zeigten sich Nekroseherde in der Muskulatur, eine Vermehrung der Lymphfollikel sowie - besonders in Gefäßnähe - zelluläre Infiltrate. Diese bestanden aus Fibroblasten, Heterophilen, großen und kleinen Lymphozyten, Makrophagen, Plasmazellen und einzelnen Riesenzellen vom Fremdkörper-Typ.

Bei Nr. 92, 94, 137 und 144 (verschiedene Polymer-Formulierungen) waren ausgedehnte Nekrosen, viele, teilweise sehr große Lymphfollikel und eine starke zellige Infiltration des Gewebes zu sehen.

Die Infiltrate bestanden v.a. aus Lymphozyten, aber auch aus Fibroblasten, Heterophilen, Makrophagen, Plasmazellen und bei Nr. 137 und 144 auch aus Riesenzellen vom Fremdkörper-Typ.

Taube Nr. 64 (Carbopol + Polascamer A IP 7001) zeigte eine deutlich geringere Gewebsveränderung. Außer einem aktivierten Gefäßendothel sowie einer Vermehrung und Proliferation von Lymphfollikeln konnten keine wesentlichen Läsionen gefunden werden.

Bei Nr. 119 (Carbomer 5 2 % IP 8174; tief in der Subcutis gelegen) handelte es sich um ein konfluierendes Granulom mit einem Demarkationswall, der überwiegend aus Bindegewebe bestand, in dem aber auch sehr viele Riesenzellen zu finden waren. Da bei der bakteriologischen Untersuchung *Salmonella typhimurium* var. *copenhagen* nachgewiesen wurde, handelte es sich um ein Salmonellen-Granulom.

Die Einzelbefunde sind in der Tab. 22 aufgeführt.

Tab. 22:
Histologische Befunde verdickter Injektionsstellen bei Tauben aus Versuch 1

Nr.	*	bakt. Befund	histologischer Befund	Impfstoff
51	8	+++ Micrococcus	- kleine Nekroseherde in der Muskulatur - Vakuolen in Muskelfasern - vermehrt kleine Lymphfollikel - einige entzündliche Infiltrate (Fibroblasten, Heterophile, Lymphozyten, Makrophagen und FK-Riesenzellen)	w/o-Emulsion mit Marcol 52 (IP 6792 bzw. IP 8656)
135	5	++ E.coli	- Muskelzellnekrosen - Vakuolen in Muskelfasern - starke Lymphfollikelproliferation - starke zelluläre Infiltration mit vielen Lymphozyten, einigen Plasmazellen, einzelnen Heterophilen und FK-Riesenzellen	
92	5	+++ Micrococcus	- ausgedehnte Muskel- und Gefäßnekrosen - Lymphfollikel vermehrt - starke zellige Infiltration, v.a. mit Plasmazellen, mononukleären Zellen und wenigen Heterophilen	Carbomer 3 0,5% (IP 8168 bzw. IP 8657)
94	5	++ Micrococcus	- ausgedehnte Muskelzellnekrosen - teilweise große Lymphfollikel - starke zellige Infiltration, v.a. mit Lymphozyten, wenigen Heterophilen, einigen Plasmazellen - Kapillareinsproßung	
137	5	+(+) E.coli	- ausgedehnte Muskelzellnekrosen - starke zellige Infiltration, dabei etwa 1/5 Heterophile, viele auffallend große Riesenzellen v.a. vom FK-Typ, auch einzelne vom Langhans-Typ	
144	5	+(+) E.coli	- ausgedehnte Muskelzellnekrosen - starke zelluläre Infiltration mit Lyphozyten und Plasmazellen, viele FK-Riesenzellen, wenig Heterophile	Carbomer 3 0,5% + Poloxamer B (IP 8658)
64	8	+ Micrococcus	- vermehrte und vergrößerte Lymphfollikel - Blutgefäße stark gefüllt, Endothel aktiviert	Carbopol + Polascamer A (IP 7001)
119	5	+ Mischkultur mit Salmonellen	- Granulom mit nekrotischen Massen im Zentrum, Bindegewebskapsel mit vielen Plasmazellen und reichlich FK-Riesenzellen	Carbomer 5 2 % (IP 8174)
* Woche p.inj.				

3.2.6.2 Befunde aus Versuch 2

Von den angefertigten Schnitten Nr. 157 - 171 (Carbomer 4 0,5 % + Poloxamer B IP 8660) fiel Nr. 161 durch nur geringe Gewebsveränderungen auf. Vermutlich lag die Schnittebene nicht in, sondern am Rand der veränderten Gewebsareale. Alle anderen Proben wiesen ausgedehnte Nekrosen auf. Auch Blutgefäßwände waren in die Nekrosen einbezogen, Gefäße vielfach thrombosiert, v.a. kleinere Venen. Daneben bestand eine Lymphfollikelaktivierung und eine ausgeprägte zelluläre Infiltration. Im zeitlichen Ablauf zeigten sich die Veränderungen nur wenig variabel.

In der 1. und 2. Woche p.inj. waren in den Nekrosen auch Extravasate zu sehen, später nicht mehr. Eine zellige Infiltration der Nekroseherde konnte erst gegen Ende des Beobachtungszeitraums diagnostiziert werden. Einsprossende Kapillaren waren erst ab der 5. Woche p.inj. erkennbar.

Der Grad der zelligen Gewebeeinfiltration war generell stark, aber es scheint zeitliche Unterschiede bzgl. der Beteiligung verschiedener Zellpopulationen zu geben. Während anfangs mononukleäre Zellen, v.a. Lymphozyten und Plasmazellen vorherrschten und wenig Heterophile zu sehen waren, machten in der 3. Woche p.inj. die Heterophilen etwa 1/3, ab der 4. Woche wiederum nur einen kleinen Teil der Population aus. Plasmazellen waren 1 und 2 Wochen p.inj. häufig und wurden danach seltener. Lymphozyten waren konstant vertreten.

Fremdkörper-Riesenzellen waren ab der 3. Woche p.inj. vereinzelt, in einem Präparat (Nr. 163) sogar häufig anzutreffen.

Fibroblasten fanden sich ebenfalls ab der 3. Woche p.inj. in geringer Zahl zunehmend bis zur 5. Woche p.inj..

Die Einzelergebnisse sind Tab. 23 zu entnehmen.

Tab. 23: Histologische Befunde nach Impfung mit Carbomer 4 0,5 % + Poloxamer B IP 8660

Nr.	* bakt. Befund**	histologischer Befund	histologische Besonderheiten
157	1 keine Keime nachweisbar	-ausgedehnte Nekrosen mit Extravasaten -Gefäße vielfach mit aktiviertem Endothel, teilweise mit Wandnekrosen; viele Gefäße thrombosiert, die Thromben sind z.T. bereits in Organisation begriffen	
158	1 ++ Micrococcus		zelluläre Infiltrate stark gefäßgebunden, nur gelegentlich auch gefäßfrei
159	1 ++ Micrococcus	-starke zelluläre Infiltration mit mononukleären Zellen, v.a. Plasmazellen u. Lymphozyten, kaum Heterophile -Lymphfollikelaktivierung	
160	2 keine Keime nachweisbar	-ausgedehnte Nekrosen mit Extravasaten -größere Gefäße wenig verändert; Wände kleinerer Gefäße, v.a. Venen, von Zellen durchdrungen	mononukleäre Zellen: Heterophile ca. 1: 1
162	2 +++ Micrococcus ++ E.coli	-starke zelluläre Infiltration, überwiegend mononukleäre Zellen, relativ viele Lymphozyten u. viele Plasmazellen, auch Heterophile -Lymphfollikel vermehrt	wenig Heterophile dünner Bindegewebsaum um einige Nekroseherde
161	2 +++ Micrococcus ++ E.coli		wenig verändert amorphes Material, das reaktionslos im Gewebe liegt, diskrete Muskelfasernekrosen
163	3 Haut ++, Leber + Herz + E.coli	-ausgedehnte Nekroseherde -viele Gefäßwände zellulär durchdrungen, kleine Gefäße häufig thrombosiert	viele, ausgesprochen große FK-Riesenzellen
164	3 Haut ++, Leber + E.coli	-starke zelluläre Reaktion, ca. 1/3 Heterophile, 2/3 mononukleäre Zellen (u.a. Makrophagen) -deutliche Lymphfollikelvermehrung	vereinzelt Riesenzellen, außerhalb der Gefäße im Abbau befindliche Erythrozyten, geringe Bindegewebszubildung
165	3 ++ E.coli		Pigmentablagerung im Zytoplasma von mononukleären Zellen (Ery-Abbau), geringe Bindegewebszubildung
166	4 +++ Strept. u. etwas E.coli	-ausgedehnte Nekrosen -kleine Gefäße häufig thrombosiert; Thromben in Organisation begriffen	relativ viele Heterophile (1/3 ~ 1/2) vereinzelt FK-Riesenzellen
167	4 + Mischkultur: 2 Kol. E.coli, Strept., Staph., Bac.sp.	-starke zelluläre Infiltration (überwiegend (Nr. 167/168) Lymphozyten, auch Heterophile, wenig Plasmazellen	einige Riesenzellen, einzelne Lymphfollikel
168	4 + Mischkultur: Strept., Staph., Bac.sp., 1 Kol. E.coli		etwas mehr Plasmazellen als bei Nr. 166/167, wenig Riesenzellen
169	5 Haut 3 Kol. E.coli	-deutliche Muskelfasernekrosen, zellig infiltriert, einsprossende Kapillaren -Gefäße z.T. thrombosiert, in Organisation begriffen	einzelne Lymphfollikel
170	5 keine Keime nachweisbar	-zelluläre Infiltrate: Lymphozyten, Heterophile, Plasmazellen, einige Fibroblasten	subepitheliale Veränderungen, die mit der Impfung vermutl. nichts zu tun haben; dort Riesenzellen vom Langhans-Typ. Wegen TB-Verdacht ZN-Färbung: TB negativ
171	5 2 Kol. E.coli		Nekrosen sehr klein einzelne FK-Riesenzellen

* Woche p.inj. ** ohne Angabe = Haut, Leber und Herz

Die Präparate Nr. 172 - 181 (w/o-Emulsion mit Marcol 52 IP 8656) wiesen insgesamt gesehen wesentlich geringere Veränderungen auf als Nr. 157 bis Nr. 171 (Carbomer 4 0,5 % + Poloxamer B IP 8660). Während bei letzteren die starke zelluläre Reaktion im Vordergrund stand, war bei ersteren eine unterschiedlich stark ausgeprägte Vakuolenbildung in den Muskelfasern auffallend, daneben traten aber auch thrombosierte Gefäße und eine leichte zelluläre Gewebsreaktion auf. Diese kleinen Infiltrate bestanden vorwiegend aus mononukleären Zellen, wobei hier die Lymphozyten gegenüber den Plasmazellen stark überwogen, etwa ab der 2. Woche p.inj. kamen zunehmend Fibroblasten hinzu.

Nur in einem Fall (Nr. 175) war eine Heterophilie erkennbar.

In der 4. Woche p.inj. waren in einigen Schnitten wenige Fremdkörper-Riesenzellen sichtbar. In der 5. Woche zeigte sich eine Normalisierung der Verhältnisse. Die Einzelbefunde sind in Tab. 24 aufgelistet.

Die histologischen Befunde wiesen deutlich Unterschiede zwischen den beiden in Versuch 2 untersuchten Impfstoffformulierungen (Carbomer - w/o-Emulsion) auf:

Nach Carbomer-Injektion waren ausgedehnte Nekrosen, Gefäßschäden und Infiltrationen von Zellen sichtbar, die vermutlich in das betroffene Gebiet eingewandert sind und sich dort vermehrt haben. Am Ende des 5-wöchigen Beobachtungszeitraums p.inj. zeigte sich kaum eine Veränderung der entzündlichen Reaktion.

Ganz anders nach Injektion der w/o-Emulsion. Es traten nur kleine Nekrosen, leichte Gefäßläsionen und nur eine leichte Zellinfiltration auf, wobei letztere vorwiegend aus Lymphozyten und später aus Fibroblasten bestand, aus Zellen also, die zumindest zum Teil ortsfest sind und sich bei Bedarf dort vermehren. Die festgestellten Vakuolen in verschiedener Größe und Häufigkeit dürften wohl Reste des öligen Adjuvans sein. Am Ende des Untersuchungszeitraums schien auch der entzündliche Prozeß abgeklungen zu sein.

Tab. 24: Histologische Befunde nach Impfung mit w/o-Emulsion mit Marcol 52 IP 8656

Nr.	* bakt. Befund**	histologischer Befund	histologische Besonderheiten
172	1 keine Keime nachweisbar	-kleine Nekroseherdchen -zelluläre Infiltration, überwiegend mononukleäre Zellen, diese meist Lymphozyten -Gefäße teilweise thrombosiert	evtl. peripher geschnitten
173	1 keine Keime nachweisbar	-Vakuolen in Muskelfasern	Gefäßwände teilweise von Zellen durchdrungen, Veränderungen großflächiger als bei Nr. 172
174	2 (+) Mischkultur	-einzelne Muskelfasernekrosen -Gefäße nahezu unverändert	evtl. peripher geschnitten
175	2 +++ Micrococcus ++ E.coli		in den Muskelfasern Vakuolen;Lymph- follikel etwas vermehrt u. ver- größert; zellige Infiltrate mit relativ vielen Heterophilen, vielen Fibroblasten, wenig Plasmazellen
176	3 ++ E.coli	geringgradige Veränderungen: -vereinzelt geringe Muskelfaser- degeneration -nur leichte zelluläre Reaktion, dabei überwiegend Fibroblasten	
177	3 ++ E.coli	-Gefäße teilweise stark gefüllt, Gefäßwände aktiviert	dicht unter dem Epithel ein kl. Herdchen mit zellulärem Infiltrat (v.a. Lymphozyten), geringer Vakuolen- u. Bindegewebszubildung
178	4 Haut:(+) E.coli	geringe Veränderungen, annähernd normal: -einzelne Muskelzellnekrosen -kleine Zellinfiltrate, v.a. aus Fibroblasten	wenige FK-Riesenzellen
179	4 Haut: + E.coli	-einige kleine Lymphfollikel	kleines Herdchen mit Vakuolen in den Muskelzellen (Reparaturstadium)
180	5 (+) Micrococcus 4 Kol. E.coli	geringe Veränderungen, annähernd normal: -z.T. Muskelzelldegeneration mit Vakuolen -geringe Zellinfiltrate aus Fibroblasten und einigen FK-Riesenzellen	
181	5 ++ Strept., Bac. sp.,E.coli		

* Taube Nr.

** ohne Angabe = Haut, Leber und Herz

3.2.7 Lokale Veränderungen am lebenden und am toten Tier

Vergleicht man die Palpationsergebnisse kurz vor dem Töten der Tauben mit denen an den frishtoten Tauben (bei eröffneter Haut), dann erkennt man große Differenzen:

Bis auf 1 Taube (Nr. 169) war bei den 15 mit der Carbomer-Formulierung geimpften Tieren am toten Tier eine Hautverdickung feststellbar, am lebenden Tier war dieselbe Verdickung aber kurz vorher nur bei 4 Tieren zu palpieren.

Bei den mit der w/o-Emulsion geimpften Tieren fällt der Vergleich etwas anders aus. Hier waren postmortal nur bei 3 (der 10) Tauben Hautveränderungen palpierbar und nur bei einer dieser Tauben war der Nachweis am lebenden Tier gelungen.

Unabhängig vom Impfstofftyp wiesen (bis auf Nr. 161) alle geimpften Tiere histologisch nachweisbare Läsionen unterschiedlichen Schweregrades auf, d.h. auch bei postmortal unverändert erscheinender Haut konnten histologische Veränderungen nachgewiesen werden. Den Vergleich bei den einzelnen Tauben zwischen intravital bzw. postmortal palpierbaren und dem histologischen Nachweis von Veränderungen erlaubt Tab. 25.

Eine Ausnahme bildete lediglich die Nr. 161. Bei dieser Taube war histologisch ein annähernd physiologischer Befund zu erheben. Dies ist aber mit Sicherheit darauf zurückzuführen, daß die Schnittebene die veränderte Stelle nur peripher traf, denn sowohl am lebenden als auch am toten Tier war eine Hautverdickung palpierbar.

Tab. 25:

Lokale Veränderungen an der Injektionsstelle

kurz vor bzw. nach Tötung der Tiere

1, 2, 3, 4 oder 5 Wochen p.inj. (Versuch 2)

Impfstoff-Typ	*	Taube Nr.	Palpation (lebend)	Palpation (tot)	histologisch
Carbomer 4 0,5 % + Poloxamer B IP 8660	1	157	-	+	+
		158	-	+	+
		159	+	+	+
	2	160	+	+	+
		161	+	+	+/-
		162	-	+	+
	3	163	-	+	+
		164	-	+	+
		165	-	+	+
	4	166	-	+	+
		167	+	+	+
		168	-	+	+
	5	169	-	-	+
170		-	+	+	
171		-	+	+	
w/o-Emulsion mit Marcol 52 IP 8656	1	172	-	+	+
		173	+	+	+
	2	174	-	-	+
		175	-	-	+
	3	176	-	-	+
		177	-	+	+
	4	178	-	-	+
		179	-	-	+
	5	180	-	-	+
		181	-	-	+
* Tötung der Tiere p.inj. (in Wochen) + Veränderung deutlich feststellbar +/- Veränderung undeutlich feststellbar - Veränderung nicht feststellbar					

4. Diskussion

Verträglichkeit

Die unter den Versuchsbedingungen zu beobachtende allgemeine Verträglichkeit war für alle Impfstoffe gut. Das schließt nicht aus, daß vorübergehende Leistungseinbußen unter Praxisbedingungen auftreten könnten. Solche Leistungseinbußen sind aber unerheblich, da Impflinge kurz nach der Impfung nicht (z.B. durch Beteiligung an Wettflügen) belastet werden sollen und wohl auch nicht belastet werden.

Die Beurteilung der lokalen Verträglichkeit war ungleich schwerer. Verifikation oder Ausschluß einer lokalen Entzündung durch eine klinische Untersuchung ist nämlich nicht immer möglich. Die Probleme beginnen beim Auffinden der durch den Impfstoff in Mitleidenschaft gezogenen Gewebsareale. Es ist nämlich keineswegs sicher, daß der Impfstoff am Injektionsort verbleibt. Vielmehr kann er ganz oder teilweise versacken, was eine durch ihn ausgelöste Gewebsirritation milder erscheinen läßt (wenn ein Teil versackt) oder unauffindbar macht. Man muß sich damit begnügen, die Injektionsstelle wiederzufinden und bewertet die Verträglichkeit unter der Prämisse, daß sich der Impfstoff nicht wesentlich vom Ort der Injektion entfernt hat.

Doch auch das Auffinden der Injektionsstelle bereitet Schwierigkeiten. Ein Auszupfen von Federn scheidet als Markierungsmethode von vornherein aus, da diese innerhalb einiger Wochen nachwachsen. Ein Abschneiden der Federn ist nicht praktikabel, da dies sehr knapp über der Haut in einer relativ großen Fläche geschehen müßte. Somit muß mit einer ausreichend haltbaren und gut sichtbaren Farbmarkierung die Injektionsstelle gekennzeichnet werden.

Damit ist aber eines der klassischen Kennzeichen der Entzündung übertrücht: die Rötung (Rubor). Der Nachweis einer Rötung hätte aber ohnehin

keinen hohen Aussagewert, da sie durch die Manipulation am Federkleid und an der Haut zum Aufsuchen der Injektionsstelle hervorgerufen werden könnte.

Auch die beiden anderen klassischen Entzündungszeichen (Calor und Dolor) erweisen sich als nicht feststellbar.

Die Messung der Hauttemperatur ist schwierig durchführbar und zudem nicht aussagekräftig. Die gemessenen Temperaturschwankungen bei unbehandelten Tieren von bis zu 2,4° C schließen eine Hauttemperaturbestimmung zum Nachweis einer lokalen Entzündung aus. Eine entzündungsbedingte Temperaturerhöhung wäre nicht von physiologischen Werten innerhalb des Streuungsbereiches zu unterscheiden.

Eine durch Palpation eventuell auslösbare Schmerzhaftigkeit kann nicht sicher nachgewiesen werden; Abwehrbewegungen, die die Tauben bei der Palpation machen, erweisen sich als untaugliches Kriterium, die Tiere machen dieselben Abwehrbewegungen auch ohne Berührung der Injektionsstelle. Dies stimmt überein mit den Angaben von SCHOTT (1987), wonach bei starker Fixierung von Tauben nicht zwischen Flucht- und Schmerzreaktion unterschieden werden kann.

Hinzu kommen große individuelle Unterschiede in der Schreckhaftigkeit und daraus resultierenden Abwehrbewegungen.

Zur klinischen Untersuchung, ob eine Impfstoffformulierung eine lokale Entzündung hervorruft, bleibt daher nur die Palpation, bei der eine Verdickung an der Injektionsstelle ertastet wird.

Wirklich zuverlässig ist die Palpation allerdings nicht. Erfolgt die Impfung im Nacken, dann sind Verdickungen mit einiger Übung sicher fühlbar. Diskrete Schwellungen entgehen aber möglicherweise der Palpation. Noch weniger verlässlich ist Palpation nach Injektion an der neuerdings bevorzugten Injektionsstelle im kaudalen Halsbereich. Hier ist die Impfstelle der Palpation nicht so gut zugänglich, und es ist - insbesondere bei gutgenährten Tieren - reichlich subcutanes Binde- und Fettgewebe vorhanden. Dies führt relativ leicht dazu, daß eine vorhandene Verdickung nicht palpiert werden kann (vgl. Tab. 25).

Es verbessert aber die scheinbare "Verträglichkeit" der so applizierten Impfstoffe.

Deshalb sind Angaben zur lokalen Verträglichkeit mit großer Vorsicht zu betrachten, wenn sie durch klinische Untersuchung erhoben wurden. Je nach Sorgfalt, zeitlichem Aufwand und Übung des Untersuchers sind beträchtliche Schwankungen möglich. Fehlen Angaben zur genauen Injektionsstelle, so ist eine Vergleichbarkeit ohnehin nicht gegeben.

Die histologische Untersuchung liefert (wenn die durch den Impfstoff veränderte Gewebspartie auffindbar ist) sicher objektive Daten, hat aber neben dem relativ großen Aufwand den entscheidenden Nachteil, daß dazu die Impflinge getötet werden müssen. Das schließt Feldversuche oder allgemein Untersuchungen an großen Tierzahlen aus.

Bei der histologischen Untersuchung erwies sich die getestete w/o-Emulsion mit Marcol 52 (IP 8656 = Para-myxo-vac Vemie^o) der Carbomer-Formulierung (Carbomer 4 0,5 % + Poloxamer B IP 8660) als überlegen. Bei den mit der Emulsion geimpften Tieren war die entzündliche Reaktion nicht so stark und nach 5 Wochen weitgehend abgeklungen. Die von der Carbomer-Vakzine verursachten Veränderungen enthielten relativ viel nekrotisches Material; die entzündliche Reaktion war am Ende des Beobachtungszeitraums noch keineswegs beendet.

In welchen Ausmaß eine bakterielle Besiedelung der Injektionsstelle die Ergebnisse der histologischen Untersuchung beeinflusst, ist nur schwer abschätzbar. Mikrokokken, Streptokokken, Staphylokokken und Bacillus sp. sind als normale Hautkeime anzusehen und sind als solche wenig pathogen. Es sind daher bei gesunden Tauben keine nennenswerten Reaktionen zu erwarten.

Außerdem sind Blut und somit möglicherweise auch andere Gewebe der Taube nicht immer keimfrei (BIHLER 1981). Escherichia coli zählt aber sicher nicht zur normalen Hautflora der Haustaube, und entzündliche Reaktionen in der Subcutis sind daher wahrscheinlich.

Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung und der Anteil von Heterophilen in den entzündlich veränderten Geweben sind widersprüchlich (s. Taube Nr. 164 und 165 bzw. 160). Es hat vielmehr den Anschein, daß die Nekrosen, hervorgerufen durch das Adjuvans, die jeweilige Heterophi-

lie provozieren. Bei den mit w/o-Emulsion geimpften Tauben ist trotz Nachweis von Bakterien kaum Heterophilie nachweisbar, während nach Carbomer auch ohne wesentliche Bakterienzahlen reichlich Heterophilie auftritt.

Der Versuch mißlang, durch Injektion von röntgenkontrastmittelhaltigen Impfstoffen Aussagen über deren jeweilige Verweildauer am Injektionsort machen zu können. Die Ergebnisse beziehen sich nur auf das Kontrastmittel, nicht aber auf den Impfstoff selbst. Die Beobachtung, daß in Emulsionsformulierungen das Kontrastmittel tendenziell länger nachweisbar ist, berechtigt nicht dazu, diese Tendenz auch für die Impfstoffe anzunehmen. Zwar darf angenommen werden, daß noch Impfstoff bzw. Impfstoffkomponenten vorhanden sind, wenn Kontrastmittel nachweisbar ist, doch ist auch dies nicht absolut sicher.

Der Umkehrschluß ist aber sicher nicht zulässig, d.h. auch wenn das Röntgenbild kontrastmittel-negativ ist, können noch Impfstoffreste vorhanden sein. Dafür spricht z.B. die noch nach 5 Wochen feststellbare Vakuolierung der mit Emulsionsvakzine geimpften Tauben in Versuch 2.

Auch JARC u. KÖLBL (1984) und PIRETTI et al. (1982) haben bei Hühnern nach Impfung mit Emulsionsvakzine noch relativ lange Zeit (56 Wochen bzw. 282 Tage) Impfstoffreste am Injektionsort gefunden.

Um zu erfahren, wie lange ein Impfstoff am Injektionsort verbleibt, wäre das radioaktive Markieren der einzelnen Impfstoffe (Adjuvantien und/oder Antigen) die erfolgversprechendste Methode. Dies war aber aus technisch-ausstattungsmäßigen Gründen nicht möglich.

Wirksamkeit

Die Wirksamkeitsprüfung einer Vakzine kann entweder direkt über einen Challengeversuch oder indirekt durch Bestimmung humoraler Antikörper erfolgen. Die erste Methode hat eine höhere Aussagekraft, ist aber wesentlich aufwendiger (MAYR et al. 1984). Die indirekte Prüfung ist dann sinnvoll, wenn zwischen humoralem Antikörpertiter und Schutz vor Infektion eine (möglichst enge) Korrelation besteht.

Die engste Korrelation besteht, wenn der Schutz vor einer Erkrankung ausschließlich auf humoraler und nicht auf zellulärer Immunität beruht.

Für Infektionen mit ND-Viren trifft dieser "Idealfall" nicht zu; zelluläre Abwehrmechanismen sind hier mit beteiligt (MAYR et al. 1984). Eine Beziehung zwischen AK-Titerhöhe und Impfschutz ist jedoch gegeben. Deshalb können bei Hühnern zur Beurteilung des Impferfolges nach Impfung gegen die Newcastle-Krankheit HAH-Antikörperbestimmungen vorgenommen werden (KALETA u. SIEGMANN 1971; PHILLIPS 1973).

Nach POLTEN et al. (1985) besteht bei Tauben eine direkte Korrelation zwischen der Höhe der Serumtiter und dem Schutz vor Erkrankung. Dies gilt jedoch nur für hohe AK-Titer; sie gelten als Indikator für guten Schutz (POLTEN 1986). In der Literatur wird jedoch nicht angegeben, welche Serumtiter als hohe AK-Titer bewertet werden dürfen.

Auch Tauben ohne meßbare Antikörper können einer Challenge-Infektion standhalten und völlig gesund bleiben (POLTEN et al. 1985; KNOLL 1986). Eine möglicherweise vorhandene, unter der Nachweisgrenze liegende AK-Menge ist wohl ebensowenig dafür verantwortlich wie das Vorkommen nicht hämagglutinationshemmender Antikörper. Ob dieser Schutz auf eine durch die immunologische Gedächtnisreaktion bedingte, sehr rasch stattfindende AK-Produktion und/oder auf eine zelluläre Immunität zurückzuführen ist, ist bisher unbekannt.

Somit können auch die Tiere aus dem Langzeitversuch noch über eine belastbare Immunität verfügen, obwohl sie nur noch niedrige oder keine meßbaren AK-Titer besitzen.

Die Beurteilung hämagglutinationshemmender Antikörper im Bereich niedriger Titer bereitet auch aus einem anderen Grund Schwierigkeiten: Sie wirft die Frage nach der Spezifität solcher Titer auf.

KALETA u. SIEGMANN (1971) stellen fest, daß beim Huhn selbst in unverdünntem Plasma mit dem HAH nachgewiesene Antikörper gegen NDV als spezifisch gewertet werden dürfen.

KALETA et al. (1973) schränken diese Aussage dahingehend ein, daß in Hühnerseren möglicherweise nichtspezifische Inhibitoren (NSI) vorkommen, die die Reaktion im HAH beeinflussen können. Deshalb sollte ein gegen NSI unempfindlicher NDV-Stamm, z.B. NDV Montana, als Antigen verwendet werden.

In beiden Untersuchungen standen SPF-Hühner zur Verfügung. Das Fehlen eines SPF-Status für Tauben macht ebensolche Untersuchungen an Tauben bisher unmöglich und wird nicht nur deshalb mehrfach beklagt (HUPE 1980; KNOLL 1986; POLTEN 1986). Lediglich JASPERS u. HERMANN-DEKKERS (1986) geben an, die von ihnen berichteten Untersuchungen seien an SPF-Tauben durchgeführt worden. Eine Spezifikation der "Pathogen-Freiheit" geben sie nicht. In der Arbeit, auf die sie sich beziehen (VINDEVOGEL u. DUCHATEL 1985), ist nur angegeben, die Tauben seien "PMV 1 infection free". Rein theoretisch könnten solche Tauben sogar bereits geimpft sein.

Während der gesamten durchgeführten eigenen Versuche waren bei keiner Kontrolltaube "unspezifische" niedrige Antikörpertiter feststellbar. Dies läßt zwar darauf schließen, daß bereits HAH-Titer von 1:2 (= Verdünnung 1 + 1, die niedrigste im Test vorkommende Verdünnungsstufe) spezifisch sind; beweisend ist diese Beobachtung schon wegen der relativ kleinen Tierzahl nicht.

POLTEN (1986) betrachtet Titer von 1:2 als unspezifisch, solche von 1:4 und höher als spezifisch.

Um möglichst viele Adjuvansformulierungen in die Auswahl für die Versuche 2 und 3 einbeziehen zu können, wurden im Versuch 1 nur wenige Tiere pro Formulierung eingesetzt. Die Antigenmenge war bei allen Präparationen gleich.

Damit ist die Einteilung der Präparationen in solche mit guter, mittlerer, schlechter und keiner Wirksamkeit unter dem Vorbehalt der angegebenen Versuchsbedingungen gültig. Die große Schwankungsbreite der Einzelergebnisse (Nach Impfung mit ein- und demselben Impfstoff kommen Tauben mit hohen AK-Titern ebenso vor wie solche mit mittleren oder gar überhaupt keinen AK-Titern; vgl. z.B. Tab. 8 Tauben Nr. 1, 136 und 85) ist einerseits bedingt durch die Heterogenität der untersuchten Einzelindividuen. Andererseits ist eine gleichmäßige Wirkung auf alle Impflinge eine Forderung an einen guten Impfstoff.

Durch Mittelwertbildung hätten diese großen Schwankungen ausgeglichen werden können. Bei Tierzahlen von nur 4, 8 oder auch 16 Tieren pro Impfstoffformulierung würden diese großen Differenzen aber nur verschleiert werden. Auch HUPE (1980) berichtet, daß einzelne Tauben in völlig verschiedener Weise reagieren können und beklagt das Fehlen genetisch einheitlicher, spezifiziert pathogen-freier Tauben. Eine statistisch zuverlässige Aussage kann deshalb nur nach Untersuchung einer wesentlich größeren Zahl von Tauben der verschiedensten Rassen gemacht werden.

Als schlecht oder wirkungslos eingestufte Adjuvantien könnten unter anderen Bedingungen gute Adjuvanswirkung zeigen. Neben dem oben genannten individuellen Einfluß der Tauben, der durch größere Tierzahlen ausgeglichen werden müßte, kann die jeweils eingesetzte spezielle Formulierung der Adjuvans/Antigen-Kombination für die mangelnde Wirksamkeit verantwortlich sein. Die pro Dosis enthaltene Menge des Antigens, vor allem aber die des Adjuvans, sowie deren Mischungsverhältnis zueinander sind entscheidende Faktoren für die Wirksamkeit (DRESSER 1968; NIBLACK et al. 1979). Ein mögliches Adjuvans kann deshalb erst als unwirksam klassifiziert werden, wenn es in Formulierungen mit ausreichend variiertem Zusammensetzung getestet wurde. Saponin ist beispielsweise als gut wirksames Adjuvans bekannt (MAYR et al. 1984; BOMFORD 1980, 1984), wird oft aber zusammen mit anderen Adjuvantien eingesetzt. Neuerdings werden auch Fraktionen aus Saponin mit weniger Nebenwirkungen benutzt.

NIBLACK et al. (1979), KNUDSEN (1982) und GOUGH et al. (1983) erzielten mit CP 20961 gute Adjuvanswirkungen. Sie untersuchen aber auch Mischungen von CP 20961 in Intralipid.

Widersprüchliches wird von o/w-Emulsionen berichtet. Während MAYR et al. (1984) den o/w-Emulsionen jegliche Adjuvanswirkung absprechen, be-

schreibt RIBI (1986) erfolgreiche Versuche mit o/w-Emulsionen, die nur 1 - 2 % Öl enthalten.

Selbstverständlich ist auch möglich, daß ein bei anderen Tierarten wirksames Adjuvans bei Tauben keine befriedigende Wirkung entfaltet. Dennoch sollte die Frage der richtigen Kombination bei einigen Substanzen bedacht werden. Bei der vorliegenden Untersuchung sollte jedoch das Zusammenwirken der verschiedenen Adjuvans-Formulierungen mit der einheitlich auf 56 hämagglutinierende Einheiten eingestellten Antigenmenge im Vergleich zu der bekannt wirksamen w/o-Emulsion mit Marcol 52 (= Para-myxo-vac Venie®) geprüft werden.

Somit sind durch Mengenveränderung, Kombination verschiedener Adjuvantien und Veränderung der Galenik viele verschiedene Impfstoffformulierungen herstellbar. Als Basis für künftige Versuche sind aber Adjuvantien aus der Gruppe der "guten" Impfstoffe sicher erfolgversprechender als solche aus der Gruppe mit "schlechter" oder "keiner" Wirksamkeit.

Auf dem Weg weg von niemals völlig risikofreien Lebendimpfstoffen zu hochwirksamen und gut verträglichen Impfstoffen aus inaktivierten Erregern kommt den Adjuvantien eine zentrale Bedeutung zu. WAKSMAN hoffte bereits 1979, daß es bald möglich sein werde, mit Hilfe von Adjuvantien jeden gewünschten Effekt im Immunsystem auszulösen.

Wenn dieses Wunschziel erreicht ist, ist es sicher ein leichtes, für Tauben einen Paramyxoviroseimpfstoff zu entwickeln, der gut verträglich ist und neben systemischem auch lokalen Schutz vermittelt. Ein solcher hochwirksamer Impfstoff könnte - wie MEULEMANS et al. (1986) vermuten - als Antigen ein gentechnisch hergestelltes F-Glycoprotein der Virushülle enthalten.

Unter den angegebenen Versuchsbedingungen kann der Schluß gezogen werden, daß der Impfstoff mit Marcol 52 (Para-myxo-vac Venie®) die geringeren Nebenwirkungen bei erprobter Wirksamkeit aufweist. Die mit dem Carbomer-Impfstoff im Langzeitversuch erhaltenen humoralen Antikörper liegen ebenfalls unter den mit der w/o-Emulsion erreichten Durchschnittswerten (KNOLL 1986). Für Carbomere als Adjuvantien scheint damit das Maximum an Wirksamkeit erreicht zu sein, da die aus mehreren Formulierungen (verschiedene Carbomere, verschiedene Konzentrationen) ausge-

wählte Verbindung in Versuch 1 die besten Resultate erbracht hatte. Die Antigenkonzentration der Versuchsimpfstoffe sollte aber nicht verändert werden. Sie entspricht der AG-Konzentration der bereits erfolgreich eingesetzten und als Standard mituntersuchten w/o-Emulsion mit Marcol 52 und liegt damit in einem für eine ökonomische Herstellung vertretbaren Bereich.

Eine abschließende Bewertung des Versuchs kann jedoch erst durch einen Belastungsversuch mit pathogenen Tauben-PMV erfolgen.

Die im beschriebenen Versuch 3 überlebenden Tiere sind dafür vorgesehen.

5. Zusammenfassung

Insgesamt 26 verschiedene Formulierungen (incl. Placebo-Emulsion und adjuvansfreie Antigen-Suspension) von Impfstoffen mit inaktivierten Erregern gegen die Paramyxovirose der Tauben wurden auf Verträglichkeit und Wirksamkeit untersucht.

Störungen des Allgemeinbefindens traten nicht auf. Die lokale Verträglichkeit wurde klinisch durch Palpation ermittelt.

An 2 Impfstoffformulierungen wurde die lokale Verträglichkeit außerdem durch histologische Untersuchungen überprüft. Dabei zeigte die w/o-Emulsion (mit Marcol 52) palpatorisch und histologisch eine bessere Verträglichkeit als die geprüfte Carbomer-Formulierung. Die histologisch nachweisbare entzündliche Reaktion war nach Verabreichung der Emulsion geringer ausgebildet und schneller beendet. Die bakteriologischen und histologischen Befunde legen den Schluß nahe, daß die lokalen Reaktionen meist auf das Adjuvans zurückzuführen sind.

Die Palpation erwies sich als nur bedingt taugliches Mittel zur Beurteilung der Verträglichkeit. Besonders nachdem als Ort für die subcutane Injektion nicht mehr der Nacken, sondern der kaudale Halsbereich bevorzugt wird, sind Verdickungen intravital nur noch schwer palpierbar. Das an dieser Stelle meist reichlich vorhandene Fettgewebe bedingt damit eine verbesserte "Verträglichkeit" der Impfstoffe.

Die Wirksamkeit wurde durch die Untersuchung auf hämagglutinationshemmende Antikörper im Serum geprüft. Danach lassen sich die 26 verwendeten Formulierungen in 4 Gruppen einteilen.

Gut wirksam waren die w/o-Emulsion mit Marcol 52 (= Para-myxo-vac Vemie^o) und 5 Carbomer-Formulierungen, darunter Colombovac^o PMV.

Mittlere Wirksamkeit zeigten Isopropylpalmitat und 3 Carbomer-Formulierungen.

Nur schlechte Wirkung entfalteten die Formulierungen mit o/w-Emulsion (2 Varianten), Intralipid-Emulsion, 5 Carbomer-Formulierungen sowie die Formulierungen mit Poloxamer oder CP 20961.

Wirkungslos waren schließlich 2 Formulierungen mit Polascamer, je 1 mit Carbomer, Saponin, ohne Adjuvans und - erwartungsgemäß - eine mit w/o-Placebo-Emulsion ohne Antigen.

Im Langzeitversuch mit der (auch histologisch untersuchten) Carbomer-Formulierung wiesen nach 6 Monaten nur noch 4 von 20 Tauben Antikörpertiter (max. 1:8) auf.

Summary

Compatibility and efficiency of some adjuvants in vaccines against paramyxovirosis of pigeons

A total of 26 different formulations (inclusive placebo-emulsion and adjuvant-free antigen suspension) of vaccines with inactivated viruses against paramyxovirosis in pigeons were examined for their compatibility and efficiency.

The general condition was not impaired. The local compatibility was clinically determined by palpation.

In the case of 2 vaccine formulations, the local compatibility was furthermore tested by histological examinations. Thereby the w/o-emulsion (with Marcol 52) palpatorically and histologically showed a better compatibility than the Carbomer formulation examined. The histologically provable inflammatory reaction was less extensive and quicker brought to an end after administration of the emulsion. The bacteriological and histological findings suggest that the local reactions are mostly to be attributed to the adjuvant.

Palpation proved to be suitable only to a limited extent for judging compatibility. Especially as no longer the upper neck but the caudal lower neck are preferred as site for the subcutaneous injection, thickened areas are hard to palpate intravitaly. The fatty tissue which mostly exists plentifully at this place implies a better "compatibility" of the vaccines.

The efficiency was tested by examining the haemagglutination inhibitory antibodies in the serum. Accordingly, the 26 formulations used are to be classified into 4 groups.

The w/o-emulsion with Marcol 52 (= Para-myxo-vac Vemie^o) and 5 Carbomer formulations including Colombovac^o PMV showed good efficiency.

Isopropylpalmitat and 3 Carbomer formulations were of medium efficiency.

The formulations with o/w-emulsion (2 variations), Intralipid emulsion, 5 Carbomer formulations as well as formulations with Poloxamer or CP 20961 only displayed bad efficiency.

Finally, 2 formulations with Polascamer, one with Carbomer, Saponin, one without adjuvant and - as expected - one with w/o-placebo-emulsion without antigen proved to be ineffective.

In the long-term test with the (also histologically examined) Carbomer formulation only 4 of 20 pigeons still showed antibody titers (max. 1:8) after a period of 6 months.

Sumario

Compatibilidad y eficacia de algunos adyuvantes en vacunas contra la paramyxovirosis de las palomas

Un total de 26 fórmulas diferentes (inclusive emulsión placebo y antígeno en suspensión libre de adyuvante) de vacunas con virus inactivado contra la paramyxovirosis de palomas fueron examinados en cuanto a compatibilidad y eficiencia.

No se presentaron alteraciones del estado general. La compatibilidad local fué determinada clínicamente por palpación.

En un caso de dos fórmulas de vacunas, la compatibilidad fué comprobada mediante exámenes histológicos, con la emulsión w/o (agua en aceite; con Marcol 52) se comprobó palpatoriamente e histológicamente que mostraba una mejor compatibilidad que la fórmula del Carbomer. La comprobación histológica de la reacción inflamatoria, fué después de la administración de la emulsión insignificante y de pronta mejoría. Los hallazgos bacteriológicos e histológicos llegan a la conclusión que las reacciones locales se deben al adyuvante en su mayoría.

La palpación juzgando la compatibilidad, se comprobó ser útil solamente en un limitado porcentaje. Para la inyección subcutánea, se prefiere la porción caudal del cuello en lugar de la craneal; las áreas engrosadas son difíciles de palpar en vida. El tejido graso que existe en cantidad en este lugar implica una mejor compatibilidad de las vacunas.

La eficacia fué comprobada examinando los anticuerpos hemoaglutinantes en el suero. Se acordó clasificar las 26 fórmulas usadas en 4 grupos.

La emulsión w/o con Marcol 52 (= Para-myxo-vac Vemie^o) y la 5 Carbomer, incluyendo Colombovac^o PMV, mostraron buena eficacia.

Isopropilpalmitato y 3 Carbomer fueron de média eficacia.

Las fórmulas con o/w (aceite en agua) emulsión (2 variaciones), emulsión intralípida y la fórmula 5 Carbomer, así como fórmulas con Poloxamer ó CP 20961, mostraron mala eficacia.

Finalmente 2 fórmulas Poloxamer, una con Carbomer, Saponina, una sin adyuvante y una con w/o para emulsión placebo sin antígeno, se mostraron inefectivas.

En test a largo tiempo, con la fórmula Carbomer (también examinado histológicamente) solamente mostraron títulos de anticuerpos 4 de 20 palómas (max. 1:8) después de un periodo de 6 meses.

6. Literaturverzeichnis

ANON. (1982):

Summaries and conclusions.

International Symposium on the Immunization of Adult Birds with Inactivated Oil Adjuvant Vaccines, Lyon, France, 1981.

Dev. Biol. Stand. 51, S. 319

AIKONG, Q. F., J. I. HOWELL, W. TAMPION u. J. A. LUCY (1974):

The fusion of hen erythrocytes by lipid-soluble and surface-active immunological adjuvants.

Febs Lett. 41, No. 2, 206 - 210

AITKEN, I. D., u. B. D. SURVASHE (1974):

Observations on the serological and dermal responses of turkeys to a single subcutaneous inoculation of inactivated Newcastle disease vaccine in mineral oil adjuvant.

Avian Pathol. 3, No. 3, 211 - 222

AIYEDUN, B. A. (1972):

Adjuvants and the reticuloendothelial system. The recall phenomenon of the stimulatory effects of adjuvants with homologous antigen.

J. Reticuloendothel. Soc. 12, 672 - 700

AKESTER, A. R. (1960):

The comparative anatomy of the respiratory pathways in the domestic fowl (*gallus domesticus*), pigeon (*columba livia*) and domestic duck (*anas platyrhyncha*).

J. Anat. 94, 487 - 505

ALEXANDER, D. J. (1980):

Avian paramyxoviruses.

Vet. Bull. 50, 737 - 752

ALEXANDER, D. J. (1985):

Avian paramyxovirus type 1 (NDV) infections in pigeons and poultry.

in: Proceedings of the 34th Western Poultry Disease Conference, 3.-6. März, Davis, California, USA. S. 131 - 134

ALEXANDER, D. J. (1987):

Taxonomy and nomenclature of avian paramyxoviruses.

Avian Pathol. 16, 547 - 552

- ALEXANDER, D. J., R. J. MANVELL, P. A. KEMP, G. PARSONS, M. S. COLLINS, S. BROCKMAN, P. H. RUSSELL u. S. A. LISTER (1987):
Use of monoclonal antibodies in the characterisation of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates submitted to an international reference laboratory.
Avian Pathol. 16, 553 - 565
- ALEXANDER, D. J., P. H. RUSSELL, G. PARSONS, E. M. E. ABU ELZEIN, A. BALLOUH, K. CERNIK, B. ENGSTROM, M. FEVEREIRO, H. J. A. FLEURY, M. GUITTET, E. F. KALETA, U. KIHM, J. KÜSTERS, B. LOMNICZI, J. MEISTER, G. MEULEMANS, K. NEROME, M. PETEK, S. POKOMUNKSI, B. POLTEN, M. PRIP, R. RICHTER, E. SAGHY, Y. SAMBERG, L. SPANOGHE u. B. TUMOVA (1985):
Antigenic and biological characterisation of avian paramyxovirus type 1 isolates from pigeons - an international collaborative study.
Avian Pathol. 14, 365 - 376
- ALLISON, A. C. (1979):
Mode of action of immunological adjuvants.
J. Reticuloendothel. Soc. 26, Suppl., 619 - 630
- ALLISON, A. C., N. E. BYARS u. R. V. WATERS (1986):
Immunologic adjuvants: Efficacy and safety considerations.
in: R. M. NERVIG, P. M. GOUGH, M. L. KAEBERLE u. C. A. WHETSTONE (Hrsg.): Advances in carriers and adjuvants for veterinary biologics.
Iowa State University Press, Ames, Iowa, S. 91 - 103
- ANDERSON, A. O., A. PLOTNER u. D. H. RUBIN (1983):
Effect of enteric priming with reovirus and lipoidal amine adjuvant on mucosal lymphatic tissue and anti-viral IgA secretion.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 409, 769 - 775
- BAUMBACH, B. u. J. SCHNEIDER (1985):
Serologische Untersuchungen von Taubenseren auf Antikörper gegen ein Paramyxovirusisolat und Newcastle Disease-Virus nach Überstandener Paramyxovirusinfektion, bzw. nach Impfung mit Lebend- und Totimpfstoff.
Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 92, 90 - 92
- BAXENDALE, W., u. D. LÜTTICKEN (1982):
The results of field trials with an inactivated gumboro vaccine.
International Symposium on the Immunization of Adult Birds with Inactivated Oil Adjuvant Vaccines, Lyon, France, 1981.
Dev. Biol. Stand. 51, S. 211 - 219
- BEATTY, J. D., B. G. BEATTY, F. PARASKEVAS u. E. FROESE (1984):
Liposomes as immune adjuvants: T cell dependence.
Surgery. 96, No. 2, 345 - 351
- BECHIR, R., K.-H. HINZ u. O. SIEGMANN (1979):
Immunisierungsversuche an Tauben mit einer Salmonella-Mineralöl-Vakzine.
Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 86, 144 - 149

- BERNHARD, K., U. GLOOR u. E. SCHEITLIN (1952):
Über den Abbau aliphatischer Kohlenwasserstoffe mit
8 - 18 C-Atomen im Tierkörper.
Helv. chim. Acta. 35, No. 239
- BIHLER, R. (1981):
Die Blutkultur als diagnostisches Hilfsmittel bei Tauben.
Vet. Diss., München
- BOMFORD, R. (1980):
The comparative selectivity of adjuvants for humoral and
cell-mediated immunity. Part I, II.
Clin. Exp. Immunol. 39, 426 - 434, 435 - 441
- BOMFORD, R. (1984):
Relative adjuvant efficacy of $Al(OH)_3$ and Saponin is related to
the immunogenicity of the antigen.
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 75, 280 - 281
- BOX, P. G., I. G. S. FURMINGER u. W. W. ROBERTSON (1974):
Immunising turkeys against Newcastle disease with oil emulsion
killed vaccine.
Vet. Rec. 95, 371 - 372
- BRÜCKNER, D. (1987):
Topographie der Blutgefäße von Kopf und Hals der Taube und deren
Bedeutung bei der Injektion von Paramyxovirus-1-Impfstoffen.
in: A. v. LOEN, G. M. DORRESTEIN, B. KOUWENHOVEN u. J. W. E. STAM
(Hrsg.): Europäische Tagung Vogelkrankheiten, 5./6. März, Beerse,
Belgien. Tagungsbericht, S. 46 - 57
- BRUGH, M., H. D. STONE u. H. W. LUPTON (1983):
Comparison of inactivated Newcastle disease viral vaccines
containing different emulsion adjuvants.
Am. J. Vet. Res. 44, 72 - 75
- CHANG, C.-F., u. P. B. HAMILTON (1979):
The thrombocyte as the primary circulating phagocyte in chickens.
J. Reticuloendothel. Soc. 25, 585 - 590
- CHEDID, L., C. CARELLI u. F. AUDIBERT (1986):
Use of adjuvants, antigens, and carriers in synthetic veterinary
vaccines.
in: R. M. NERVIG, P. M. GOUGH, M. L. KAEERLE u. C. A. WHETSTONE
(Hrsg.): Advances in carriers and adjuvants for veterinary
biologics.
Iowa State University Press, Ames, Iowa, S. 51 - 59
- COOK, J. K. A. (1982):
Aspects of vaccination against egg drop syndrome 1976 (EDS-76).
International Symposium on the Immunization of Adult Birds with
Inactivated Oil Adjuvant Vaccines, Lyon, France, 1981.
Dev. Biol. Stand. 51, S. 123 - 126

- DE CLERCQ, E., u. M. LUCZAK (1976):
Antiviral activity of Carbopol, a cross-linked Polycarboxylate.
Arch. Virol. 52, 151 - 158
- DEUTSCHES ARZNEIBUCH (1986):
9. Ausgabe.
Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart; Govi-Verlag, Frankfurt
- DEVRIESE, L., u. A. DEVOS (1982):
Immunity to salmonellosis in pigeons: resistance to experimental infection six months after a single vaccination with an inactivated salmonella typhimurium var. Copenhagen oil-adjuvant vaccine.
Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift 51, Nr. 4, 281 - 289
- DRESSER, D. W. (1968):
An assay for adjuvancity.
Clin. Exp. Immunol. 3, 877 - 888
- DUCHATEL, J. P., u. H. VINDEVOGEL (1986):
Assessment of vaccination of pigeons against paramyxovirus type 1 infection with inactivated aqueous-suspension or oil-emulsion vaccines.
Avian Pathol. 15, 455 - 465
- EIDSON, C. S. (1982):
Vaccination of breeder chickens and their progeny with a life or with an inactivated oil emulsion Newcastle disease vaccine.
Part I, II.
International Symposium on the Immunization of Adult Birds with Inactivated Oil Adjuvant Vaccines, Lyon, France, 1981.
Dev. Biol. Stand. 51, S. 191 - 197, 198 - 205
- ESKELUND, K. H. (1986):
The control of paramyxovirus-1 (PMV-1) infection in domestic pigeons.
in: Proceedings of the 35th Western Poultry Disease Conference, 29. April - 2. Mai, Puerto Vallarta, Jalisco, Mexico. S. 51 - 53
- ESKELUND, K. H. (1987).
Firmeninformation der Maine Biological Laboratories, Waterville, Maine, USA vom 17.07.87
"To: Pigeons Fanciers".
- FRANCHINI, A. u. M. V. PIRETTI (1979):
Indagine sui costituenti idrocarburici presenti in tessuti di pollo inoculato con un vaccino a virus spento ed emulsionato con olii minerali, contro la malattia di Newcastle.
Clin. Vet. 102, Nr. 4, 301 - 308
- FRITZSCHE, K. (1986):
Folgerungen aus dem bisherigen Verlauf der Paramyxovirose der Tauben.
Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 93, 20 - 23

- FRITZSCHE, K., E. F. KALETA, R. RÜGER, B. POLTEN, J. RADDEI u. J. MEISTER (1984):
Kombinierte Vakzination der Brieftauben gegen
Paramyxovirus-1-Infektion und Taubenpocken ist möglich.
Prakt. Tierarzt. 8, 676 - 678
- FROST, P., u. E. M. LANCE (1978):
On the mechanism of action of adjuvants.
Immunology. 35, 63 - 68
- GOUGH, P. M., C. J. FRANK, D. G. MOORE, M. A. SAGONA u. C. J. JOHNSON (1983):
Lactogenic immunity to transmissible gastroenteritis virus induced by a subunit immunogen.
Vaccine. 1, 37 - 41
- GUITTET, M., J. P. PICAULT u. G. BENNEJEAN (1982):
Maladie de gumboro: immunité maternelle transmise aux poussins issus de reproducteurs vaccinés.
International Symposium on the Immunization of Adult Birds with Inactivated Oil Adjuvant Vaccines, Lyon, France, 1981.
Dev. Biol. Stand. 51, S. 221 - 233
- HEIL, U. (1984):
Untersuchungen zur Charakterisierung und Klassifizierung des "Tauben-Paramyxovirus" sowie Überprüfung der Schutzwirkung verschiedener Newcastle-Disease-Impfstoffe bei Tauben (Columba livia Gmel. 1789 var. dom.).
Vet. Diss., München
- HERMANN-DEKKERS, W. M., D. JASPERS, H. VINDEVOGEL u. J. P. DUCHATEL (1987):
Vaccination of pigeons against paramyxovirus infection in infected areas, a comparative trial.
in: A. v. LOEN, G. M. DORRESTEIN, B. KOUWENHOVEN u. J. W. E. STAM (Hrsg.): Europäische Tagung Vogelkrankheiten, 5./6. März, Beerse, Belgien. Tagungsbericht, S. 32 - 38
- HILBRICH, P. (1972):
Natürliche Newcastle-Infektion in einem Taubenbestand.
Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 79, 181 - 184
- HOFFMAN, W. W., J. J. KORST, J. F. NIBLACK u. T. H. CRONIN (1973):
N,N-Dioctadecyl-N',N'-Bis(2-Hydroxyethyl) Propanediamine:
Antiviral activity and Interferon stimulation in mice.
Antimicrob. Agents Chemother. 3, 498 - 502
- HUNTER, R. L., u. B. BENNETT (1984):
The adjuvant activity of nonionic block polymers polymer surfactants. II. Antibody formation and inflammation related to the structure of triblock and octablock copolymers.
J. Immunol. 133, Vol. 6, 3167 - 3175

- HUNTER, R. L., u. B. BENNETT (1986):
Structural basis of the activity of surface-active adjuvants.
in: R. M. NERVIG, P. M. GOUGH, M. L. KAEBERLE u. C. A. WHETSTONE
(Hrsg.): Advances in carriers and adjuvants for veterinary
biologics.
Iowa State University Press, Ames, Iowa, S. 61 - 69
- HUPE, B. (1980):
Experimentelle Untersuchungen an Tauben mit verschiedenen
Präparationen einer Salmonella-Adjuvans-Vakzine.
Vet. Diss., Hannover
- JARC, H. u. S. KÜBL (1984):
Histologische und chemische Untersuchungen über Rückstände in
Hühnern nach Applikation einer Öl-Emulsionsvakzine gegen Newcastle
Disease.
Berl. Münch. tierärztl. Wochenschr. 97, Nr. 9, 325 - 329
- JASPERS, D., u. W. M. HERMANN-DEKKERS (1986):
One year protection of pigeons against PMV-1 infection with one
single dose of an inactivated carbomer vaccine.
in: Proceedings of the 35th Western Poultry Disease Conference,
29. April - 2. Mai, Puerto Vallarta, Jalisco, Mexico. S. 86 - 89
- KAEBERLE, M. L. (1986):
Function of carriers and adjuvants in induction of immune
responses.
in: R. M. NERVIG, P. M. GOUGH, M. L. KAEBERLE u. C. A. WHETSTONE
(Hrsg.): Advances in carriers and adjuvants for veterinary
biologics.
Iowa State University Press, Ames, Iowa, S. 11 - 23
- KALETA, E. F., J. KÖSTERS, K. FRITZSCHE, J. KOHAUS, J. RADDEI u.
O. SEMMLER (1983):
Die Paramyxovirus-Infektion.
Die Brieftaube. 100, Nr. 53, 1859 - 1863
- KALETA, E. F., J. MEISTER, E. HÜRBER u. B. POLTEN (1984):
Beitrag zu Klinik, Epizootiologie, Diagnose und Prophylaxe der
Paramyxovirusinfektion der Taube.
Prakt. Tierarzt. 65, Nr. 6, 522 - 525
- KALETA, E. F., B. M. POLTEN, N. SCHMEER u. J. A. MEISTER (1985):
Schutzimpfung von Tauben gegen die Paramyxovirus-1-Infektion mit
Lebendvirus-Adsorbatimpfstoffen bzw. inaktivierten
Emulsionsimpfstoffen.
Prakt. Tierarzt. 66, Nr. 10, 800 - 806
- KALETA, E. F., u. O. SIEGMANN (1971):
Vergleichende Untersuchungen über den Nachweis
hämagglutinationshemmender und virusneutralisierender Antikörper
nach Vaccination gegen die Newcastle Disease.
Arch. Geflügelk. Bd. 2, 79 - 83

- KALETA, E. F., O. SIEGMANN, H. LÜDERS u. W. JANSSEN (1972):
Kinetik NDV-spezifischer Antikörper in Hühnern. I. Methode und
Reproduzierbarkeit des HAH-Testes.
Avian Pathol. 1, No. 1, 35 - 45
- KALETA, E. F., O. Siegmann, H. LÜDERS u. W. JANSSEN (1973):
Kinetik NDV-spezifischer Antikörper in Hühnern. II. Nachweis,
Bedeutung und Elimination von nicht-spezifischen Inhibitoren und
Agglutininen in Hühnerseren.
Avian Pathol. 2, No. 2, 153 - 167
- KHALAF, S. E. D., E. F. KALETA u. O. SIEGMANN (1982):
Comparative studies on the kinetics of haemagglutination
inhibition and virus neutralising antibodies following vaccination
of chickens against egg drop syndrome 1976 (EDS 76).
International Symposium on the Immunization of Adult Birds with
Inactivated Oil Adjuvant Vaccines, Lyon, France, 1981.
Dev. Biol. Stand. 51, S. 127 - 137
- KING, A. S. u. J. McLELLAND (1984):
Birds. Their structure and function. 2. Aufl.
Verlag Baillière Tindall, London, Philadelphia
- KINTSCHER, M. (1986):
Die Qualitätssicherung bei Immunpräparaten.
Monatsh. Veterinärmed. 41, 832 - 834
- KIRSCH, U. (1986):
Zur Schutzwirkung kleinemolekularer Proteinantigene der Oberfläche
von Salmonella gallinarum gegen die Salmonella thyphimurium var.
copenhagen Infektion der Taube (Columba livia, Gmel. 1789
var. dom.).
Vet. Diss., München
- KISSLING, R., u. F. HENK (1987):
Infektion von Legehennen durch Paramyxovirus Typ 1 in Österreich.
Arch. Geflügelk. 51, 121 - 126
- KNIGHT, D. J., u. J. W. G. LEIPER (1977):
Continued studies on the adjuvancy effect of natural and synthetic
double-stranded RNA preparations with inactivated Newcastle disease
vaccines in fowls.
Res. Vet. Sci. 23, 38 - 42
- KNOLL, M. (1986):
Untersuchungen zur Wirksamkeit einer homologen Ölemulsionsvakzine
gegen die Paramyxovirose der Tauben.
Vet. Diss., München
- KNOLL, M., J. KÜSTERS u. D. Lütticken (1986):
Immunitätsdauer nach Impfung gegen die Paramyxovirose der Tauben
mit einer homologen Ölemulsionsvakzine. Ergebnisse eines
Langzeitversuchs unter Laborbedingungen.
Prakt. Tierarzt. 67, Nr. 11, 975 - 980

- KNOLL, M., D. LÜTTICKEN u. J. KÜSTERS (1985):
Zur Schutzwirkung einer homologen Ölemulsionsvaccine gegen die Paramyxovirose der Tauben.
in: 4. DVG-Tagung über Vogelkrankheiten - Schwerpunkt "Papageien und Hühnervögel" - München. Tagungsbericht, S. 219 - 228
- KNUDSEN, R. C. (1982):
Adjuvant effects of two formulations of CP 20961, a synthetic lipid amine, for FMD virus vaccine in guinea pigs.
Proc. FMDC Commission. 1, 179 - 184
- KRAUTWALD, E.-M. (1987):
Zur röntgenologischen Darstellung der Nieren des Vogels mit organischen Jodverbindungen.
in: A. v. LOEN, G. M. DORRESTEIN, B. KOUWENHOVEN u. J. W. E. STAM (Hrsg.): Europäische Tagung Vogelkrankheiten, 5./6. März, Beerse, Belgien. Tagungsbericht, S. 76 - 83
- KREUTER, J., u. I. HAENZEL (1978):
Mode of action of immunological adjuvants: some physiochemical factors influencing the effectivity of polyacrylic adjuvants.
Infekt. Immun. 19, No. 2, 667 - 675
- KREUTER, J., R. MAULER, H. GRUSCHKA u. P. P. SPEISER (1976):
The use of new polymethylmethacrylate adjuvants for split influenza vaccines.
Exp. Cell Biol. 44, 12 - 19
- LIEBENOW, H., u. K. LIEBENOW (1981):
Giftpflanzen. 2. Aufl.
Verlag Enke, Stuttgart
- MAGUIRE, H. C. (1974):
Mode of action of adjuvants. (Workshop report).
in: L. BRENT u. J. HOLBOROW: Progress in immunology II, Vol. 2
Verlag North-Holland Publishing Company. S. 385 - 387
- MARTINDALE (1982):
The Extra Pharmacopoeia. 28. Aufl.
Hrsg.: J. E. F. Reynolds u. A. B. Prasad.
The Pharmaceutical Press, London
- MATSUMOTO, I. (1982):
Assembly of Paramyxoviruses.
Microbiol. Immunol. 26, 285 - 320
- MAYR, A., G. EISSNER u. B. MAYR-BIBRACK (1984):
Handbuch der Schutzimpfungen in der Tiermedizin.
Verlag Parey, Berlin, Hamburg
- McKERCHER, P. D. (1986):
Oil adjuvants: Their use in veterinary biologics.
in: R. M. NERVIG, P. M. GOUGH, M. L. KAEBERLE u. C. A. WHETSTONE (Hrsg.): Advances in carriers and adjuvants for veterinary biologics.
Iowa State University Press, Ames, Iowa, S. 115 - 119

- MEULEMANS, G., R. FROYMAN u. P. HALEN (1982):
 Immunité parentale et vaccination de poulets de chair issus de
 volailles parentales vaccinées au moyen de vaccin Newcastle
 inactivé en adjuvant huileux.
 International Symposium on the Immunization of Adult Birds with
 Inactivated Oil Adjuvant Vaccines, Lyon, France, 1981.
 Dev. Biol. Stand. 51, S. 207 - 210
- MEULEMANS, G., M. GONZE, M. C. CARLIER, P. PETIT, A. BURNY u. LÊ LONG
 (1986):
 Protective effects of HN and F glycoprotein-specific monoclonal
 antibodies on experimental Newcastle disease.
 Avian Pathol. 15, 761 - 768
- MOOS, M., Frankfurt am Main (1987):
 Schriftliche Mitteilung des Paul-Ehrlich-Instituts vom 01.04.87.
 AZ: IV/O-20 100, Briefzeichen Dr. Mo/Bo
- MÜLLER, H., C. v.d. AHE, H.-J. LUDWIG u. W. PETER (1985):
 Paramyxovirusinfektionen bei Tauben.
 Monatsh. Veterinärmed. 40, 370 - 374
- NIBLACK, J. F., I. G. OTTERNESS, G. R. HEMSWORTH, J. S. WOLFF III,
 W. W. HOFFMAN u. A. R. KRASKA (1979):
 CP-20,961: A structurally novel, synthetic adjuvant.
 J. Reticuloendothel. Soc. 26, 655 - 666
- NICKEL, R., A. SCHUMMER u. E. SEIFERLE (1973):
 Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.
 Bd. 5. Anatomie der Hausvögel.
 Verlag Parey, Berlin, Hamburg
- PANIGRAHY, B., J. E. GYIMAH, C. F. HALL u. J. D. WILLIAMS (1984):
 Immunogenic potency of an oil-emulsified Escherichia coli
 bacterin.
 Avian Dis. 28, No. 2, 475 - 481
- PAUKSTAT, G. (1987):
 Zur Tenazität von 9 Isolaten des Paramyxovirus-1 aus Tauben im
 Vergleich zum Referenzstamm NKV-Montana.
 Vet. Diss., Gießen
- PEARSON, J. E., D. A. SENNE, D. J. ALEXANDER, W. D. TAYLOR,
 L. A. PETERSON u. P. H. RUSSELL (1987):
 Characterization of Newcastle Disease virus (Avian
 Paramyxovirus-1) isolated from pigeons.
 Avian Dis. 31, No. 1, 105 - 111
- PHARMAZEUTISCHE STOFFLISTE (1984):
 Bearb. u. hrsg. v. Arzneibüro der Bundesvereinigung Deutscher
 Apothekerverbände (ABDA). 6. Aufl.
 Verlag Werbe- und Vertriebsgesellschaft Deutscher Apotheker mbH,
 Frankfurt /Main

PHILLIPS, J. M. (1973):

Vaccination against Newcastle disease: an assesement of
haemagglutination inhibition titres obtained from field samples.
Vet. Rec. 93, 577 - 583

PIRETTI, M. V., A. FRANCHINI u. T. ZANETELLO (1982):

Investigation of the hydrocarbons found in the tissues of chickens
injected with inactivated oil adjuvant vaccine.
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 175, 245 - 248

POHLMAYER, K., u. H. WISSDORF (1976):

Die Vaskularisation der Pectoralismuskulatur bei der Reisetäubchen
(Columba livia, Gmelin 1789) im Hinblick auf intramuskuläre
Applikation von Medikamenten.
Prakt. Tierarzt. 57, Nr. 2, 71 - 74

POLTEN, B. M. (1986):

Beitrag zur Immunprophylaxe der Paramyxovirus-1-Infektion der
Tauben.
Vet. Diss., Gießen

POLTEN, B. M. u. E. F. KALETA (1987):

Vermehrung von Hitchner B1-Virus in der Taube.
in: A. v. LOEN, G. M. DORRESTEIN, B. KOUWENHOVEN u. J. W. E. STAM
(Hrsg.): Europäische Tagung Vogelkrankheiten, 5./6. März, Beerse,
Belgien. Tagungsbericht, S. 39 - 45

POLTEN, B. M., E. F. KALETA u. J. A. MEISTER (1985):

Weitere vergleichende Untersuchungen mit verschiedenen Impfstoffen
zur Immunisierung von Tauben gegen die Paramyxovirus-1-Infektion.
in: 4. DVG-Tagung über Vogelkrankheiten - Schwerpunkt "Papageien
und Hühnervögel" - München. Tagungsbericht, S. 207 - 218

PREIS, I. u. R. S. LANGER (1979):

A single-step immunisation by sustained antigen release.
J. Immunol. Methods. 28, 193 - 197

RAUTENFELD v., D. B., u. E. M. HICKEL (1982):

Die parenterale Applikation beim Vogel.
in: Erkrankungen der Zootiere. 24. Int. Sympos., Veszprém 1982.
Verh.ber., S. 235 -242

REID, G. G., u. P. J. BLACKALL (1987):

Comparison of adjuvants for an inactivated infections coryza
vaccine.
Avian Dis. 31, No. 1, 59 - 63

RIBI, E. (1986):

Structure-function relationship of bacterial adjuvants.
in: R. M. NERVIG, P. M. GOUGH, M. L. KAEERLE u. C. A. WHETSTONE
(Hrsg.): Advances in carriers and adjuvants for veterinary
biologics.
Iowa State University Press, Ames, Iowa, S. 35 - 49

- RICHTER, R. (1983):
Paramyxovirusinfektion bei Tauben.
in: 3. DVG-Tagung über Vogelkrankheiten - Schwerpunkt "Tauben" -
München. Tagungsbericht, S. 86 - 95
- RICHTER, R. u. J. KÜSTERS (1983):
Paramyxovirusinfektion bei Rassetauben. (Kurzmitteilung).
Prakt. Tierarzt. 64, Nr. 3, 250
- RICHTER, R., J. KÜSTERS u. K. KRÄMER (1983):
Zur Paramyxovirusinfektion bei Tauben.
Prakt. Tierarzt. 64, Nr. 10, 915 - 918
- ROLLE, M., A. MAYR, P. A. BACHMANN, B. GEDEK, H. MAHNEL u. H. SCHELS
(1984)
Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre für Tierärzte,
Biologen und Agrarwissenschaftler. Lehrbuch für Praxis und
Studium. 5. Aufl.
Enke Verlag, Stuttgart
- ROTE LISTE (1986):
Hrsg.: Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e.V.
Verlag Editio Cantor Aulendorf/Württ.
- RUBIN, D. H., A. O. ANDERSON, D. LUCIS u. S. M. MICHALEK (1983):
Potentiation of the secretory IgA response by oral and enteric
administration of CP 20,961.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 409, 866 - 870
- SCHMEER, N., J. MEISTER, E. F. KALETA u. B. POLTEN (1984):
Ist Chlamydia psittaci ein komplizierender Faktor bei der
Paramyxovirus-1-Infektion der Tauben?
Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 91, 398 - 399
- SCHNEEGANSS, D., München (1987):
Persönliche Mitteilung vom 12.11.
- SCHOTT, E. (1987):
Untersuchungen zur Anwendung der Lokalanästhesie bei Tauben
(Columba livia, Gmel., 1789, forma urbana) mit Procain und
Lidocain.
Vet. Diss., München
- SCHUSSER, G., C. LECHNER, G. LOUPAL, J. WÖRGÜTTER u. L. VASICEK (1984):
Paramyxovirus-1-Infektion bei Tauben in Österreich.
Wien. tierärztl. Monatsschr. 71, 353 - 365
- SCHUSSER, G., J. WÖRGÜTTER, C. LECHNER u. V. ABADZIEV (1985):
Vakzination gegen die Paramyxovirus-1-Infektion bei Tauben.
Wien. tierärztl. Monatsschr. 72, 342 - 346
- SCHWARZE, E., L. SCHRÖDER u. G. MICHEL (1985):
Kompendium der Geflügelanatomie. 4. Aufl.
Verlag Fischer, Stuttgart

- STARCK, D. (1982):
Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere auf evolutionsbiologischer Grundlage.
Bd. 3. Organe des aktiven Bewegungsapparates, der Koordination, der Umweltbeziehung, des Stoffwechsels und der Fortpflanzung.
Verlag Springer, Berlin, Heidelberg
- STETTEN, D. J. (1943):
Metabolism of a paraffin.
J. Biol. Chem. 147, 327 - 332
- STONE, H. D., M. BRUGH, S. R. HOPKINS, H. W. YODER u. C. W. BEARD (1978):
Preparation of inactivated oil-emulsion vaccines with avian viral or mycoplasma antigens.
Avian Dis. 22, 666 - 674
- THOMA, K., O. H. PAETZOLD, H. TRONNIER, H. HILMER, B. MERK, R. OSCHMANN u. E. SIEMER (1983):
Dermatika. 2. Aufl.
Verlag Werbe- und Vertriebsgesellschaft Deutscher Apotheker mbH, Frankfurt/Main
- TIZARD, I. (1982):
The immune response of birds.
International Symposium on the Immunization of Adult Birds with Inactivated Oil Adjuvant Vaccines, Lyon, France, 1981.
Dev. Biol. Stand. 51, S. 3 - 10
- TSE, H. Y., u. A. S. ROSENTHAL (1986):
Immunogenicity and antigen presentation in the induction of an immune response.
in: R. M. NERVIG, P. M. GOUGH, M. L. KAEBERLE u. C. A. WHETSTONE (Hrsg.): Advances in carriers and adjuvants for veterinary biologics.
Iowa State University Press, Ames, Iowa, S. 3 - 9
- VASICEK, L., u. G. SCHUSSER (1985):
Auswirkung der Paramyxovirus-1-Infektion der Tauben auf Hühnerbestände in Österreich.
Wien. tierärztl. Monatsschr. 72, 340 - 342
- VINDEVOGEL, H. u. J.-P. DUCHATEL (1985):
Vaccination trials of pigeons against paramyxovirus 1 (PMV 1) infection with inactivated vaccines.
in: 8. Int. Congr. WVPA, Jerusalem, Israel. Vortragsvorlage
- VINDEVOGEL, H., J.-P. DUCHATEL, F. COIGNOUL, P. LEROY u. P.-P. PASTOREI (1984):
Essais de vaccination de pigeons contre la paramyxovirose au moyen de vaccins inactivés.
Ann. Méd. vét. 128, 643 - 649
- WAKSMAN, B. H. (1979):
Adjuvants and immune regulation by lymphoid cells.
Springer Semin. Immunopathol. 2, 5 - 33

WALLIS, A. S. (1984):

Mortality associated with vaccination of pigeons against
paramyxovirus type-1.

Vet. Rec. 114, 51 - 52

WOLF, G. (1986):

Kolonienstimulierende Aktivität in Mäuseseren nach Vorbehandlung
mit Inducern aus Pockenviren und anderen Mikroorganismen.

Vet. Diss., München

ZANELLA, A., u. R. MARCHI (1982):

Inactivated vaccines in oil emulsion in the control of the
infectious diseases of poultry.

International Symposium on the Immunization of Adult Birds with
Inactivated Oil Adjuvant Vaccines, Lyon, France, 1981.

Dev. Biol. Stand. 51, S. 19 - 32

7. Abkürzungen

AG	Antigen
AK	Antikörper
BCG	Bacillus Calmette Guérin
EID ₅₀	Eiinfektiöse Dosen 50
FCA	Freunds komplettes Adjuvans
FIA	Freunds inkomplettes Adjuvans
HA	Hämagglutinationstest
HAH	Hämagglutinationshemmungstest
i.m.	intramuskulär
LPS	Lipopolysaccharid
MDP	Muramyl-dipeptid
NDV	Newcastle disease Virus
o/w-(Emulsion)	Öl-in-Wasser-(Emulsion)
PBS	Phosphatpufferlösung (phosphate buffered saline)
p.inj.	post injectionem
PMV	Paramyxovirus
RNS	Ribonukleinsäure
s.c.	subcutan
SPF	spezifiziert pathogenfrei
w/o-(Emulsion)	Wasser-in-Öl-(Emulsion)
ZN	Ziehl-Neelsen-Färbung
°	eingetragenes Warenzeichen

Allen,

die zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben, möchte ich herzlich danken.

Mein besonderer Dank gilt:

Herrn Professor Dr. Josef Kösters für die Überlassung des Themas, die freundliche Unterstützung und die Durchsicht der Arbeit,

Frau Dr. Dr. habil. Helga Gerlach für die Auswertung der histologischen Präparate und für die Korrektur der histologischen und bakteriologischen Teile,

Herrn Dr. Fritz Grimm für die tatkräftige Unterstützung bei den Versuchen mit Röntgenkontrastmitteln,

den Mitarbeiterinnen im bakteriologischen Labor für die entsprechenden Untersuchungen,

der Firma Intervet, Boxmeer, Niederlande für die Bereitstellung der Versuchsimpfstoffe, v.a. Herrn Dr. D. Lütticken und Frau Dr. M. Weingarten,

der Firma Byk Gulden, Konstanz für die Überlassung des Jopamidols,

Andi für seine ständige Hilfsbereitschaft

und nicht zuletzt meiner Frau für die Übertragung des Manuskripts.

Lebenslauf

Name	Richard Pfister
geboren	am 07. April 1959 in Mindelheim
Eltern	Josef Pfister, Bundesbahnbeamter und Theresia Pfister, geb. Schedel
Familienstand	verheiratet mit Anita Pfister, geb. Waltenberger seit September 1985
Schulbildung	1965 - 1969 Volksschule Oberkammlach, jetzt Kammlach 1969 - 1979 Realschule und Gymnasium am Maristenkolleg Mindelheim mit Mittlerer Reife 1975 Abitur 1979
Studium	November 1979 bis Februar 1985 an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München mit Staatsexamen am 12. Februar 1985
Approbation	am 10. April 1985
Berufliche Tätigkeit	seit April 1985 Anfertigung der vorliegenden Arbeit; gleichzeitig teilzeitbeschäftigt in einer Großtierpraxis

